

**Entstehung und Interaktion von Impulsen
in den afferenten Fasern der Seitenlinienorgane
von *Xenopus laevis***

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie FB 23
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Albrecht Pabst
aus Herrsching

Berlin 1975

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533913_0046

**Entstehung und Interaktion von Impulsen
in den afferenten Fasern der Seitenlinienorgane
von *Xenopus laevis***



Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie FB 23
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Albrecht Pabst
aus Herrsching

Berlin 1975

b) Zwei-Punkt-Ableitung innerhalb einer Neuromastengruppe.....	31
2. Impulsentstehung bei selektiver Reizung eines Neuromasten.....	33
3. Multiple Impulsentstehungsorte.....	36
4. Lage der Impulsentstehungsorte.....	40
5. Leitungsgeschwindigkeit in den afferenten Fasern.....	50
III. Impulsinteraktion innerhalb einer Neuromastengruppe.....	53
1. Impulsinteraktion bei Reizung.....	53
a) Vergleich der maximalen Frequenzen bei Reizung eines Neuromasten und der gesamten Gruppe.....	53
b) Reizung zweier Neuromasten mit zeitlicher Verzögerung.....	54
c) Reizung einer Gruppe von zwei Neuromasten im Winkel von 45 Grad.....	58
d) Reizung einer Gruppe von sechs Neuromasten mit Reizwinkeln von 45 bis 90 Grad.....	59
2. Erste Versuche zur Impulsinteraktion bei Spontanaktivität.....	62

D. <u>Diskussion</u>	63
I. Zur Lage der Impulsentstehungsorte.....	63
II. Zur Impulsinteraktion bei Reizung.....	67
III. Zur Interaktion bei Spontanaktivität.....	73
E. <u>Zusammenfassung</u>	73
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	75
G. <u>Anhang</u>	79
H. <u>Lebenslauf</u>	81
I. <u>Danksagung</u>	82

A. Einleitung

I. Bau und Funktion der Seitenlinienorgane

In der Haut von Cyclostomen, Fischen und im Wasser lebenden Amphibien, befinden sich Mechanorezeptororgane, die auf Wasserbewegungen ansprechen. Sie werden aufgrund ihrer topographischen Anordnung am Rumpf Seitenlinienorgane genannt.

Das Seitenliniensystem des Krallenfrosches Xenopus laevis ist in mehrere Seitenlinien aufgeteilt (Murray, 1955). Jede dieser Seitenlinien besteht aus Gruppen von zwei bis zwölf freistehenden Sinnesknospen, den Neuromasten. Die Neuromasten einer Gruppe stehen in einer Reihe und haben einen mittleren Abstand von etwa 250 μm zueinander. Sie sind durch die Nervenfasern verbunden und bilden eine physiologische Einheit, das Seitenlinienorgan. Ein Neuromast besteht aus ca. 35 Sinneszellen, die von Stütz- und Mantelzellen umgeben sind (Görner, 1963). Bei den Sinneszellen handelt es sich um sekundäre Rezeptorzellen, die Haarzellen. An jeder Sinneszelle befinden sich distal etwa 50 Stereozilien, die in ihrem Bau Mikrovilli ähneln, so wie ein exzentrisch angeordnetes Kinozilium mit typischer Zilienstruktur. Die Ebene durch die beiden Zentralfibrillen der Kinozilien steht senkrecht zur Neuromastenlängsachse. Man unterscheidet zwei Typen von Sinneszellen, die gleich gebaut sind, aber bezüglich des Ansatzes des Kinoziliums spiegelbildlich zueinanderstehen (s. Kalmijn in Dijkgraaf, 1963). Beide Sinneszellentypen sind mehr oder minder regelmäßig und etwa in gleicher Anzahl innerhalb eines Organs verteilt. Kinozilien und Stereozilien aller Haarzellen eines Neuromasten ragen in eine fahnenförmige, gallertige Cupula von ca. 100 μm Länge.

Jede Neuromastengruppe wird von zwei 8-18 μm dicken myelinisierten afferenten Fasern, 1-3 dünnen myelinisierten efferenten (3-5 μm Durchmesser) und einer unmyelinisierten Faser

(0,25-0,8 μ m Durchmesser) innerviert (Russell, 1971 a). Die afferenten Fasern ziehen unter den Neuromasten entlang und geben zu jedem Neuromasten Äste ab (Murray, 1955). An der Basalmembran der Neuromasten endet ihre Myelinscheide, die Nervenfasern zweigen sich erneut auf und bilden an den Haarzellen Synapsen (Harris und Flock, 1967). Jede Faser innerviert dabei wahrscheinlich nur einen Sinneszelltyp. Die Transmittersubstanz ist GABA, wie Flock und Lam (1974) vermuten. Jede Sinneszelle wird außerdem von efferenten Synapsen versorgt. Die Transmittersubstanz ist hier Acetylcholin (Russell, 1971 b).

Eine Verschiebung der Cupula parallel zu ihrer Basis (Scherung) bewirkt, daß Stereozilien und Kinozilien parallel zur Oberfläche der Haarzellen verschoben werden (Görner, 1963 und Flock, 1971). Wird das Sinneshaarbündel dabei in die Richtung verschoben, in der das Kinozilium steht, so wird das Membranpotential der Sinneszelle verringert. Bei Ablenkung der Sinneshaarbündel in die entgegengesetzte Richtung erfolgt Hyperpolarisation (Harris, Frishkopf und Flock an Necturus maculosus, 1970). Das Rezeptorpotential bewirkt die Ausschüttung des Transmitters. Er ruft an der postsynaptischen Membran ein excitatorisches postsynaptisches Potential (EPSP) hervor (Flock und Russell, 1973).

Die beiden afferenten Fasern zeigen Spontanaktivität. Bewegung der Cupula in einer Richtung erhöht die Aktivität einer Faser und verringert die Aktivität der anderen. Auslenkung der Cupula in der entgegengesetzten Richtung bewirkt die umgekehrte Reaktion (Görner, 1963). Diese Tatsache weist darauf hin, daß die beiden Fasern funktionell mit den beiden Typen von Haarzellen mit entgegengesetzter Orientierung gekoppelt sind.

II. Problemstellung

Es war bisher nicht bekannt, an welcher Stelle die in den unmyelinisierten Endigungen der afferenten Fasern entstehenden excitatorischen postsynaptischen Potentiale zur Generierung von Aktionspotentialen führen und welche Bedeutung Lage und Anzahl der Impulsentstehungsorte für die Informationsübertragung haben. Zur Erläuterung dieser Problematik sollen im folgenden drei theoretische Möglichkeiten für Lage und Anzahl der Impulsentstehungsorte beschrieben und dazu Beispiele aus der Literatur zitiert werden.

Zunächst wäre es möglich, daß sich die durch Freisetzung von Transmitter entstandenen postsynaptischen Potentiale passiv über eine größere Entfernung bis zu einem einzigen gemeinsamen Impulsentstehungsort ausbreiten. Ein bekanntes Beispiel hierfür ist der Crustaceen-Streckkrezeptor (Florey u. Florey, 1955; Edwards und Ottoson, 1958). Durch Deformation der dendritischen Endverzweigungen wird ein Generatorpotential aufgebaut (Eyzaguirre und Kuffler, 1955). In den Dendriten sowie im Soma werden die Depolarisationen der verschiedenen peripheren dendritischen Regionen integriert und passiv bis zu einem Impulsentstehungsort geleitet, der sich im Axon ca. 0,5 mm proximal des Zellkörpers befindet. Der hier initiierte Impuls breitet sich sowohl orthodrom als auch antidrom aus.

Adrian und Zotterman (1926) nahmen an, daß auch bei der Muskelspindel des Frosches nur ein Impulsentstehungsort in der afferenten Faser vorhanden ist. Durch Untersuchungen von Katz (1950), Albuquerque et al. (1969), Ottoson und Sheperd (1970), ließ sich aber beweisen, daß nicht die durch Deformation der sensorischen Membran hervorgerufene Depolarisation direkt die Impulse am ersten Ranvierknoten der Stammfaser initiiert, sondern daß das Rezeptorpotential Impulse in den myelinisierten Ästen hervorruft (sog. Astspikes), die nach

ihrem Zusammenfluß in Richtung Stammfaser am ersten Knoten der Stammfaser einen fortgeleiteten Impuls initiieren. Die Aktivität eines Astes alleine ist nicht in der Lage, einen fortgeleiteten Impuls in der Stammfaser hervorzurufen. Dies geschieht nur, wenn mehrere Äste synchron aktiv sind.

Neben dieser zweiten Möglichkeit, daß multiple Impulsentstehungsorte in einer Faser existieren, es aber zu einer Blockierung einzeln auftretender Astspikes kommt, werden in der Literatur weitere sensorische Systeme zitiert, bei denen jeder Impuls, der in einem der Äste entsteht, auch bis zum ZNS geleitet werden kann (Lindblom und Tapper, 1966; Pabst und Kennedy, 1967; Macdonald, 1973; Floyd und Morrison; 1974; Horch, Whitehorn und Burgess, 1974).

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, welche dieser drei zitierten Möglichkeiten für die Seitenlinienorgane zutrifft. Es wird nachgewiesen, wieviele Impulsentstehungsorte in den afferenten Fasern innerhalb einer Neuromastengruppe existieren und wo sie lokalisiert sind. Hierzu wird zunächst mit histologischen Methoden der Verlauf der afferenten Fasern bei Neuromastengruppen mit verschiedener Neuromastenzahl sowie die Lage der Ranvierknoten untersucht. Unter Verwendung der morphologischen Ergebnisse erfolgt anschließend die Festlegung der Zahl der Impulsentstehungsorte mit elektrophysiologischen Methoden. Aus den morphologischen und elektrophysiologischen Ergebnissen läßt sich die Lage der Impulsentstehungsorte bestimmen.

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit den Konsequenzen, die sich aus Anzahl und Lage der Impulsentstehungsorte für die Informationsübertragung, speziell für die Aufschlüsselung von Reizen mit unterschiedlicher Reizstärke und Reizrichtung ergeben.

Unabhängig von meinen Untersuchungen konnten Murray und Capranica (1973) zeigen, daß in den Seitenlinienorganen mehr als ein Impulsentstehungsort existiert. Ihre Ergebnisse deuten auf zwei Entstehungsorte hin.

B. Material und Methode

I. Präparation

Adulte Krallenfrösche der Art Xenopus laevis Daudin werden nach der von Görner (1963) beschriebenen Methode gefangen, auf ca. 0 Grad Celsius abgekühlt und getötet. Die Haut einer Körperhälfte mit der mittleren und oberen Seitenlinie wird in Ringerlösung nach Russell (1971 a) so auf einen Paraffinrahmen gespannt, daß die Hautoberseite ca. 5 mm von Ringerlösung bedeckt ist. In der Ringerlösung befindet sich ein kleiner Flüssigkeitsbehälter, der mit einem regelbaren Kühlgerät verbunden ist. Ringerlösung und Haut können so auf gewünschte Temperaturen abgekühlt werden. Wenn nicht anders vermerkt, werden die Versuche bei Zimmertemperatur durchgeführt (22 ° C).

II. Elektrophysiologie

1. Zur Festlegung der Impulsentstehungsorte

Zur Festlegung der Impulsentstehungsorte werden von der Hautoberseite her zwei mit Indium und Woodsmetall (Gesteland et al., 1959) gefüllte Kapilarelektroden, deren Spitze platinisiert wird (Spitzendurchmesser dann ca. 2 µm), in zwei Neuromasten derselben Neuromastengruppe eingestochen, um auf diese Weise die Aktivität der afferenten Fasern abzuleiten (Schmidt, 1965; Harris, Frishkopf und Flock, 1970 an Necturus maculosus; Pabst, 1973 a). Die mit den beiden Elektroden abgeleiteten Impulse werden vorverstärkt und auf einem Oszillographen und auf je einer Spur eines Tonbandgerätes (Philips-

Analog 7) aufgezeichnet. Auf einer weiteren Spur wird gleichzeitig ein Eichsignal registriert (10 kHz Sägezahnspannung). Nur wenn das Signal-Rauschverhältnis mindestens 6:1 beträgt, werden die Registrierungen verwertet.

Gereizt wird jeweils ein Neuromast der Gruppe durch Abbiegen seiner Cupula und seiner Sinneshaare mit einem L-förmig gebogenen Glasstab, der manuell mit Hilfe eines Mikromanipulators parallel zur Hautoberfläche bewegt wird. Dies führt zu einer Impulsfrequenzerhöhung in einer der beiden Fasern. Nach etwa zwei Sekunden Reizdauer folgt eine Pause von mindestens fünf Sekunden. Bei einigen Versuchen wurde beobachtet, daß die Reizung eines Neuromasten, und zwar vor allem eine periodische Reizung, zu Flüssigkeitsverschiebungen im Bereich der gesamten Neuromastengruppe führen kann. Das bedeutet, daß durch die Reizung des gewünschten Neuromasten mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung auch ein anderer Neuromast der gleichen Gruppe gereizt werden kann. Um eine Verfälschung der Daten möglichst gering zu halten, wird deshalb auf periodische Reizung verzichtet. Außerdem werden nur die ersten Impulse jeder Reizserie ausgewertet.

Die Auswertung geschieht durch eine Ankunftszeitdifferenzmessung (Kennedy, 1968; Murray und Capranica, 1973; Murray, 1974). Hierbei wird aus der zeitlichen Verzögerung (der "Ankunftszeitdifferenz"), mit der ein Impuls mit zwei Elektroden an den Endpunkten zweier Kollateralen einer Faser abgeleitet wird, auf den Impulsentstehungsort geschlossen (Abb. 1).

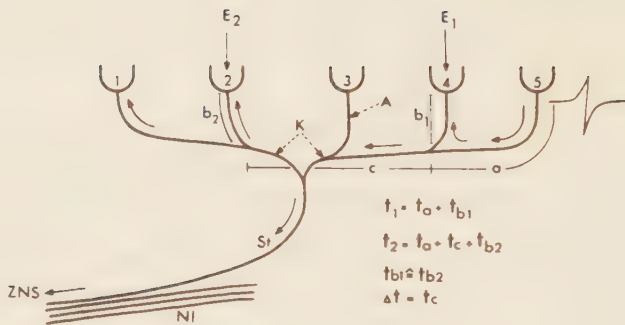


Abbildung 1: Zur Erläuterung der Ankunftszeitdifferenzmessung

Ein Impuls, der in dem mit 5 bezeichneten Neuromasten entsteht, soll sich in der durch Pfeile gekennzeichneten Weise in den Kollateralen und den Ästen ausbreiten. Zwischen den Zeitpunkten, in denen der Impuls in E_1 und E_2 abgeleitet wird, besteht eine Zeitdifferenz Δt , die "Ankunftszeitdifferenz". Δt ist bei einem Impulsentstehungsort im Neuromast 5 die Zeitdifferenz aus den Zeiten t_1 und t_2 , die der Impuls für die Strecke $a + b_1$, bzw. $a + b_2 + c$ benötigt. Wird der Impuls zuerst in E_1 abgeleitet, so wird im folgenden von einer positiven Ankunftszeitdifferenz gesprochen, ist der Impuls zuerst in E_2 , so ergibt sich eine negative Ankunftszeitdifferenz.

A=Ast; E_1 , E_2 =Ableitelektroden; K=Kollateralen; NI=Nervus lateralis; St=Stammfaser; ZNS=Zentralnervensystem.

Da der Abstand der Neuromasten einer Gruppe zueinander nur etwa 250 μm beträgt, sind die zu erwartenden Δt -Werte sehr klein. Um sie überhaupt messen zu können, werden die auf Band aufgezeichneten Impulse zur Auswertung mit 1/32 der Aufnahmegeschwindigkeit abgespielt und vom Oszillographenschirm mit einer Oszillographenkamera auf 24 mm Schmalfilm aufgenommen. Die Filmgeschwindigkeit beträgt im allgemeinen 30 cm/sec., nur bei Abb. 16 beträgt sie 25 cm/sec. Die gefilmten Impulse werden auf einen Zeichentisch projiziert. Es wird einmal der Abstand (Δt_1) der beiden Impulsspitzen zueinander (Abb. 2 a), sowie der Abstand (Δt_2) zwischen den Schnittpunkten der Ausgleichsgeraden durch die Impulsanstiegsflanken und die Grundlinien (Abb. 2 b) gemessen. Das zweite, zeitlich aufwendigere Verfahren, dient bei jedem Versuch zur Kontrolle der Ergebnisse, die mit Hilfe der ersten Methode gewonnen werden. Die Δt -Werte aus beiden Auswertverfahren können zwar in ihrem absoluten Betrag differieren, die Aussage über die Lage des Impulsenstehungsortes ist aber in allen untersuchten Fällen identisch.

Untersucht werden nur die Impulse einer Faser, die aufgrund der Reizung und ihrer Impulsform eindeutig identifiziert werden können. Außerdem wird nur jeder 2. bis maximal 7. Impuls jeder Reizserie ausgewertet. Dies geschieht einmal aus den oben erwähnten Gründen, zum anderen sind die Impulsintervalle zwischen den ersten Impulsen bei den von mir verwendeten Reizstärken kürzer als 100 msec. Damit sind diese Impulse nach Harris und Milne (1966) mit großer Wahrscheinlichkeit keine spontanen Impulse.

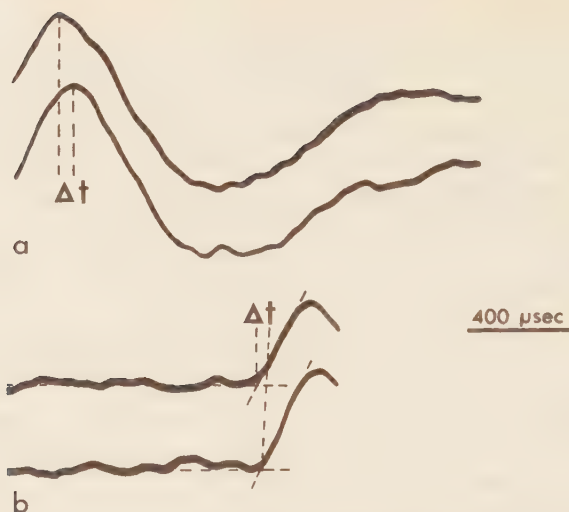


Abbildung 2: Verfahren zur Zeitdifferenzmessung Δt

Zwei Verfahren werden zur Messung der zeitlichen Verschiebung zwischen den mit zwei Elektroden E_1 und E_2 abgeleiteten Impulsen angewendet: a) Messung der zeitlichen Verschiebung der Impulsspitzen zueinander und b) Messung des zeitlichen Abstandes zwischen den Schnittpunkten der Ausgleichsgeraden durch die Impulsanstiegsflanke und der durchgezogenen Grundlinie.

Die Gleichlaufschwankungen des Tonbandgerätes und vor allem der Filmkamera lassen sich mit Hilfe des Eichsignals eliminieren. Ein größerer Fehler entsteht einmal beim Bestimmen der Spitze der Impulse (1. Auswertverfahren) und zum anderen beim Zeichnen der Ausgleichsgeraden durch Impulsanstiegsflanke und Grundlinie (2. Auswertverfahren). Durch mehrfaches Auswerten derselben Impulse zeigt sich, daß der Fehler in beiden Auswertverfahren maximal $\pm 20 \mu\text{sec}$ betragen kann.

Zur Objektivierung der Ergebnisse werden die gleichen Tonbandaufzeichnungen wie bei der Filmauswertung mit einem Computer (Linc + PDP 8) ausgewertet (Beschreibung des Programms, s. Anhang) und mit den Ergebnissen der Filme verglichen. Im Unterschied zu den zuerst beschriebenen Auswertverfahren werden hier nicht nur der 2. bis 7. Impuls jeder Reizserie ausgewertet, sondern jeder Impuls, also auch die spontanen Impulse zwischen den Reizserien. Das Verhältnis von Anzahl der spontanen Impulse zu Impulsen aus Reizserien wird jeweils angegeben.

Die auszuwertenden Impulse werden über zwei Fensterdiskriminatoren (WPI-Mod. 120) in den Computer eingegeben (Abb.3). Am Oszillographenschirm des Computers kann die jeweilige Verteilung der Δt -Werte beobachtet werden. Die dargestellten Diagramme zeigen entweder die Häufigkeitsverteilung der Δt -Werte bei einem bestimmten Zustand (Reiz oder Spontanaktivität), oder die Modifizierung der ursprünglichen Häufigkeitsverteilung nach einer Zustandsänderung (z.B. Reizserien nach Spontanaktivität).

Die Möglichkeit, daß unbeabsichtigt die Impulse beider Fasern gleichzeitig ausgewertet werden, ist bei der Computerauswertung entschieden größer, als bei der Filmauswertung, da die Impulse nur anhand ihrer Amplitude (mit einem Fensterdiskriminator) und nicht auch, wie bei der Filmauswertung, zusätzlich anhand ihrer Impulsform unterschieden werden können. Dies könnte vor allem für die Spontanaktivität von Bedeutung sein. Bei Reizung kann man dagegen annehmen, daß die Zahl der Impulse, die von der Reizung, also von einer Faser stammen, weit größer ist, als die Zahl der spontanen Impulse von der zweiten Faser. Nun zeigen Kontrollen mit dem Oszillographen, daß in den meisten Fällen beide Impulstypen eindeutig unterschieden werden, so daß auch die Δt -Werte der spontanen Impulse mit großer Wahrscheinlichkeit von einer Faser stammen.

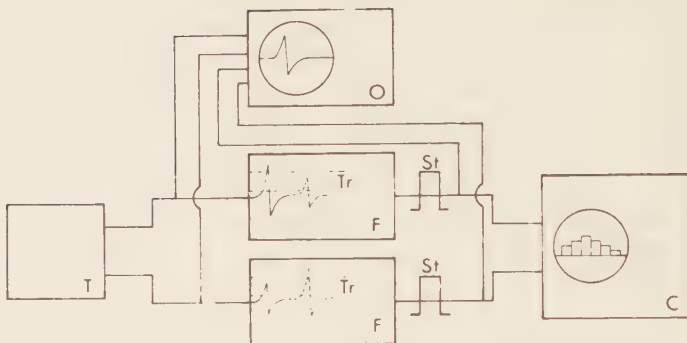


Abbildung 3: Blockschaltbild für Computerauswertung

Aufgrund der beiden afferenten Fasern erhält man zwei Impulstypen (der eine Impulstyp ist durchgehend, der andere gestrichelt gezeichnet). Da aber nur die zu einer Faser gehörigen Impulse ausgewertet werden sollen, leitet man die auf zwei Kanälen des Tonbandgerätes aufgezeichneten Impulse über zwei Fensterdiskriminatoren. Die auf diese Weise erhaltenen Standardimpulse werden in den Computer eingegeben. C=Computer; F=Fensterdiskriminator; O=Oszillograph; St=Standardimpulse; T=Tonbandgerät; Tr=Triggerschwellen.

2. Zu den Interaktionsversuchen

Mit Silberdrahtelektroden wird die Aktivität einer Neuro-mastengruppe vom Nervus lateralis abgeleitet, nachdem die übrigen vom Nervus lateralis abzweigenden Stammfasern durchtrennt wurden (Görner, 1963).

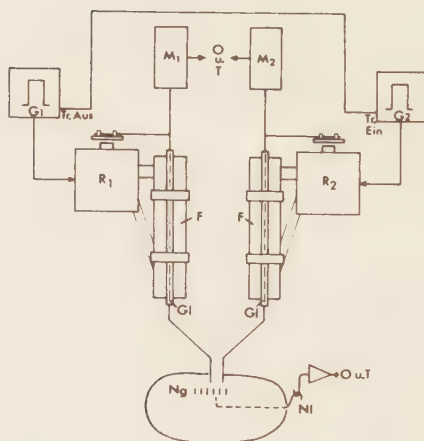
Zwei Neuromasten einer Gruppe werden gereizt, indem man zwei Wolframnadeln (ca. 50 μm Durchmesser) parallel zur Hautoberfläche und senkrecht zur Gruppenlängsachse über den beiden Neuromastenöffnungen bewegt. Dies geschieht mit Hilfe eines Relais pro Wolframnadel (Abb. 4). Die Relais sind über zwei Rechteckgeneratoren getrennt steuerbar, so daß die beiden Wolframnadeln sowohl gleichzeitig, als auch mit jeder beliebigen Zeitverzögerung zwischen den beiden Nadeln vorge-trieben bzw. zurückgezogen werden können.

Ein einzelner Neuromast einer Gruppe kann mit Hilfe eines hochfrequenten Thermokauters (Diathermiegerät) isoliert werden. Hierzu schaltet man die übrigen Neuromasten der Gruppe aus, indem eine mit Lack ("Isonel 31" der Firma Schenectady Chem.) isolierte Wolframnadel, mit einem Spitzendurchmesser von etwa 20 μm , in die Neuromasten eingestochen wird. Durch kurzes Erhitzen der Nadel werden die Sinneszellen dieses Neuromasten zerstört. Die unbehandelten Neuromasten bleiben bei richtig dosierter Strommenge weiterhin reizbar, so daß man annehmen kann, daß sie - zumindest ihre afferente Innervierung - nicht merklich beschädigt werden.

Abbildung 4: Blockschaltbild für die Reizung von zwei Neuromasten einer Gruppe

Beim Einschalten der Relais R_1 und R_2 durch die beiden Rechteckgeneratoren G_1 und G_2 (G_2 wird durch G_1 getriggert (Tr)), werden die in einer Führungsschiene (F) liegenden Nadeln vorgetrieben. Das Glasrohr (Gl), das die Nadeln umgibt, dient zur besseren Führung. Reizbeginn und Vorschubgeschwindigkeit können mit Hilfe induktiver Meß-

wertaufnehmer (M) auf dem Oszillographen (O) und dem Tonband (T) aufgezeichnet werden.
Ng=Neuromastengruppe; Nl= Nervus lateralis.



III. Histologische Methoden

1. Lichtmikroskopie

Ein Stück Haut mit den zu untersuchenden Seitenlinienorganen wird in 0,5 %-iger Osmiumsäure fixiert (Romeis, 1968) und entweder in Chloralhydrat aufgeheilt und als Totalpräparat mit Durchlicht betrachtet, oder in Paraffin eingebettet und mit einer Schnittdicke von 8 μ m geschnitten. Die Schnitte werden ohne zusätzliche Färbung betrachtet.

2. Elektronenmikroskopie

Ein isoliertes Hautstück wird 1-2 Stunden in 1 %-iger Osmiumsäure fixiert (Palade, 1952), in Mikropal eingebettet und mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Die Schnittdicke beträgt ca. 800 Å. Zur Orientierung werden 1 µm dicke mit Toluidinblau gefärbte Schnitte angefertigt und unter dem Lichtmikroskop betrachtet.

C. Ergebnisse

I. Morphologie

Vor den elektrophysiologischen Untersuchungen über Lage und Anzahl der Impulsentstehungsorte in den afferenten Fasern müssen folgende morphologische Fragen geklärt werden:

- a) Wie verlaufen die afferenten Fasern innerhalb einer Neuromastengruppe, und läßt sich ihr Verlauf in Gruppen mit unterschiedlicher Neuromastenzahl systematisieren, kann man also aus der Anzahl der Neuromasten pro Gruppe bereits auf das Innervierungsschema schließen ?
- b) Wo liegen die Ranvierschen Schnürringe, und wo endet die Myelinisierung ?

Die Klärung dieser Fragen bestimmt die später folgende elektrophysiologische Versuchsanordnung und gibt zusammen mit den elektrophysiologischen Ergebnissen Aufschluß über Anzahl und Lage der Impulsentstehungsorte.

1. Verlauf der afferenten Fasern

Die Neuromasten einer Gruppe sind in einer Reihe angeordnet, mit einem relativ konstanten Abstand zwischen den Neuromasten. Man kann also ein Innervierungsschema erwarten, das dieser Gegebenheit Rechnung trägt und damit wahrscheinlich einfacher ist, als das Schema, das man bei der Innervierung in einer Fläche angeordneter Organe durch die Äste einer Faser vorfindet.

Abb. 5 zeigt drei charakteristische Innervierungsmöglichkeiten: Es wäre erstens ein Schema denkbar, daß die Stammfaser, vom Nervus lateralis kommend, unter den Neuromasten durchzieht und von der Stammfaser hintereinander Äste zu den einzelnen Neuromasten abzweigen. Zweitens könnte es sein, daß die Stammfaser sich bei Erreichen der Gruppe in zwei Kollaterale aufspaltet. In diesem Fall sind es die beiden Kollateralen, die unter je einem Teil der Gruppe entlangziehen und von denen Äste zu den einzelnen Neuromasten abzweigen.

Das dritte mögliche Schema besitzt einen gemeinsamen Aufzweigungspunkt für alle Äste. Dies könnte bei Gruppen mit geringer Neuromastenanzahl zutreffen, aber auch bei großen Gruppen in Verbindung mit anderen, z.B. der zweiten Innervierungsmöglichkeit.

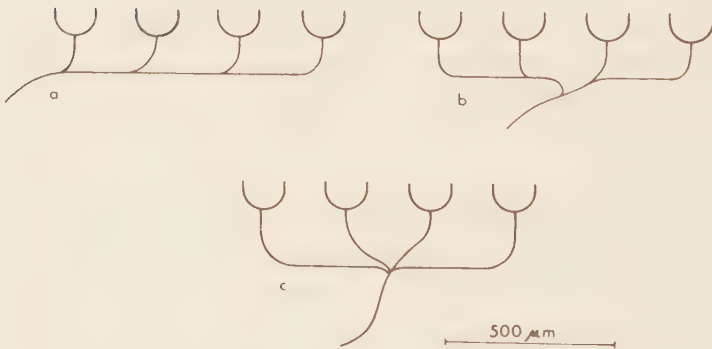


Abbildung 5: Innervierungsmöglichkeiten

Die Skizzen a, b und c zeigen drei hypothetische Möglichkeiten, wie die Äste einer afferenten Faser die Neuromasten innervieren könnten. Zur

besseren Übersicht ist nur eine Faser gezeichnet, die zweite verläuft identisch.

Den gefundenen Verlauf der afferenten Fasern bei Gruppen mit unterschiedlicher Neuromastenzahl zeigt schematisiert Abbildung 6. Es zeigt sich, daß die zweite der oben besprochenen Innervierungsmöglichkeiten auftritt. Dies läßt sich erst bei Gruppen mit mehr als drei Neuromasten deutlich erkennen, da die Innervierung von zwei Neuromasten bei allen drei vorgestellten Innervierungsmöglichkeiten und die Innervierung von drei Neuromasten bei der ersten und zweiten Möglichkeit identisch sind.

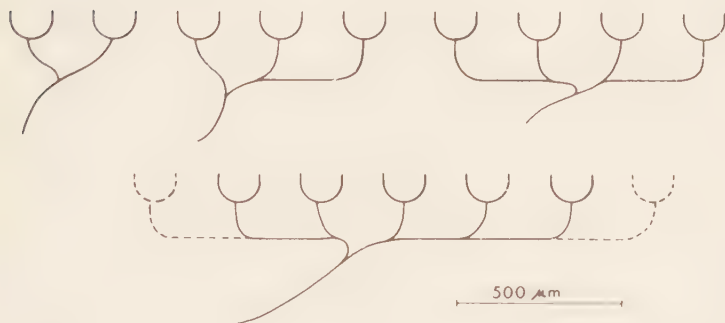


Abbildung 6: Innervierungsschema einer afferenten Faser bei Neuromastengruppen mit zwei und mehr Neuromasten

Jede der beiden afferenten Fasern (der Übersichtlichkeit halber ist nur eine Faser gezeichnet) innerviert die Neuromasten, indem die Stammfaser

sich in zwei Kollaterale aufspaltet, von denen die Äste zur Innervierung der einzelnen Neuromasten abzweigen.

Mit zunehmender Zahl von Neuromasten pro Gruppe wird zwar prinzipiell das beschriebene Innervierungsschema beibehalten, aber die Aufzweigungspunkte sind häufig nicht mehr so regelmäßig angeordnet, wie das bei kleinen Gruppen (bis fünf Neuromasten) der Fall ist. Abb. 7 soll dies anhand einer Gruppe mit sieben Neuromasten zeigen: Der Aufzweigungspunkt der Stammfaser in die beiden Kollateralen kann, ebenso wie der erste Abzweigungspunkt eines Astes von einer der Kollateralen, mehrere Millimeter entfernt vor der Neuromastengruppe liegen. Das läßt sich auch durch elektrophysiologische Ableitungen von der Stammfaser dicht an der Gruppe beweisen. Man kann dort gelegentlich mehr als zwei Impulstypen ableiten (siehe dazu Görner, 1963). Auch innerhalb einer Gruppe befinden sich die Abzweigungspunkte der einzelnen Äste nicht mehr ausschließlich unter dem zu innervierenden Neuromasten, sondern können proximal verschoben sein. Da dieses für beide afferente Fasern gilt, folgt daraus, daß die Zahl der parallel verlaufenden afferenten Fasern zwischen zwei und sechs Fasern beim Erreichen der Neuromastengruppe und zwei bis vier Fasern innerhalb einer Gruppe schwanken kann. Jeder Neuromast wird aber dennoch nur von einem Ast pro Stammfaser innerviert.

Daß mit zunehmender Zahl von Neuromasten pro Gruppe die Aufzweigungspunkte nicht mehr ausschließlich unter den zu innervierenden Neuromasten liegen, sondern häufig proximal verschoben sein können, konnte an mehreren Gruppen (mit 7,9 und 10 Neuromasten pro Gruppe) bestätigt werden. Allerdings ist es bei Totalpräparaten durch die starken Windungen und Verdrillungen der Stammfasern und der Kollateralen häufig nicht möglich, eindeutig zu entscheiden, ob ein Aufzweigungspunkt nur proximal verschoben ist - wie in Abbildung 7 dargestellt -,

oder ob sich die Kollateralen an der proximalen Gabelung in drei Fasern aufzweigen.

Bei den elektrophysiologischen Untersuchungen über die Anzahl der Impulsentstehungsorte muß berücksichtigt werden, daß bei großen Gruppen, außer den endständigen Neuromasten, auch zwei andere benachbarte Neuromasten der Gruppe einen gemeinsamen Aufzweigungspunkt bei einer ihrer afferenten Fasern haben können.

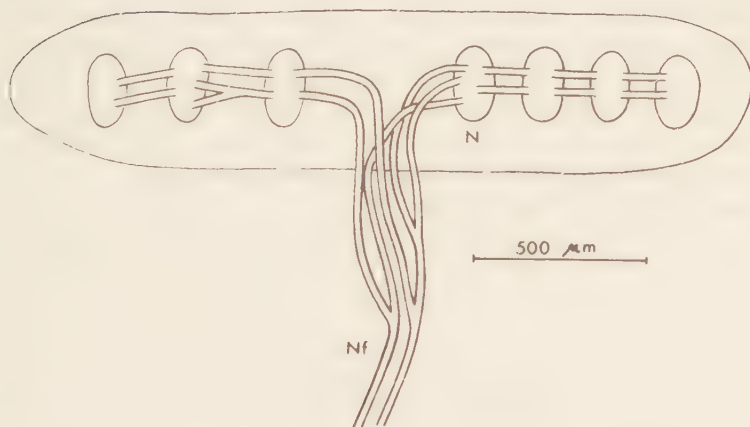


Abbildung 7: Verlauf der beiden afferenten Fasern einer Neuromastengruppe mit sieben Neuromasten

Totalpräparat; Ansicht von Hautunterseite. Die Fasern werden mit durchgehender Myelinisierung gezeichnet, da weder bei Osmium- noch bei Methylblaufärbung die Ranvierknoten eindeutig

zu erkennen sind. Die erste Aufspaltung in mehrere Kollaterale kann vor Erreichen der Neuromastengruppe, oder erst innerhalb dieser erfolgen. Bei Totalpräparaten ist nicht genau zu erkennen, welche der Fasern (Nf) den einzelnen Neuromasten (N) innervieren und welche weiterführen; deshalb wird im Neuromastenbereich der Verlauf der Fasern nicht gezeichnet.

2. Lokalisation der Ranvierknoten

Nach den Untersuchungen über den Verlauf der Fasern soll jetzt die Lage der Ranvierknoten als Orte der Impulsentstehung in den afferenten Fasern bestimmt werden. Dies geschieht mit elektronenmikroskopischen Methoden. Die Schnitte durch die Neuromasten und die sie versorgenden Nervenfasern führen zu folgendem Ergebnis (Abb. 8 a): Es existiert in den afferenten Fasern ein Ranvierknoten an jeder Aufzweigung. Abbildung 8 b zeigt den Ranvierknoten der einen afferenten Faser an der im Schema (Abb. 8 a) umrandeten Aufzweigung. Daß sich kein weiterer Ranvierknoten zwischen zwei benachbarten Aufzweigungen befindet, zeigt Abbildung 8 d. In dieser Abbildung ist die untere große Faser (af.I) in ihrer ganzen Länge zwischen den beiden Aufzweigungen - und damit zwischen zwei Ranvierknoten - zu sehen. Auch bei den beiden anderen großen Fasern (af.II_{1,2}) läßt sich bei diesen und den anderen, hier nicht dargestellten Schnitten, kein weiterer Ranvierknoten nachweisen. Die Faser af. II₂ ist offensichtlich eine Kollaterale der Faser af. II₁. Anhand von Serienschnitten kann dies rekonstruiert werden. Die obere Kollaterale (af. II₁) führt zu Neuromast N_b, die untere (af. II₂) zum benachbarten Neuromast N_c. Auch zwischen Aufzweigung und Basalmembran (Abb. 8 b) der Neuromasten wurden bei den von mir untersuchten fünf Gruppen keine weiteren Ranvierknoten gefunden. Dies gilt auch für die endständigen Neu-

romasten einer Gruppe (Abb. 8 c), so daß der erste Ranvierknoten damit maximal 300 μm (bei den endständigen Neuromasten) und mindestens 50 μm (bei den übrigen Neuromasten der Gruppe) proximal der Basalmembran liegt. Außerdem besitzen die beiden endständigen Neuromasten mit der gemeinsamen Aufzweigung auch einen gemeinsamen ersten Ranvierknoten.

In Abb. 8 b,c und d sieht man, daß der Durchmesser der afferenten Fasern zwischen zwei Aufzweigungen und zwischen Aufzweigung und Basalmembran sich nicht wesentlich unterscheidet. Er beträgt im ersten Fall zwischen 10 μm und 14 μm und im zweiten Fall zwischen 10 μm und 13 μm . Untersuchungen der myelinisierten efferenten Fasern zeigen in drei Fällen, daß außer an den Abzweigungen zumindest noch ein weiterer Ranvierknoten zwischen zwei benachbarten Gabelungen existiert. Der Durchmesser der myelinisierten efferenten Fasern beträgt zwischen zwei Aufzweigungen und zwischen Aufzweigung und Basalmembran etwa 3 μm .

Bei keinem der elektronen- und lichtmikroskopischen Schnitte sind distal der Basalmembran der einzelnen Neuromasten myelinisierte Nervenfasern zu sehen (s. Abb. 8 c). Damit wird bestätigt, daß die Myelinisierung sowohl der afferenten (Görner, 1961; Flock, 1967), als auch der efferenten Fasern vor Erreichen der Basalmembran endet. Die erste Aufzweigung zu den einzelnen Sinneszellen geschieht erst im unmyelinisierten Bereich, wenige μm distal der Basalmembran. In keinem der untersuchten Objekte wurde gefunden, daß Aufzweigungen zu den einzelnen Sinneszellen oder zu Gruppen von Sinneszellen eines Neuromasten bereits im myelinisierten Bereich proximal der Basalmembran beginnen können.

Auf eine besondere Beschreibung der Synapsen an den Sinneszellen kann ebenso verzichtet werden, wie auf eine differenzierte Darstellung der verschiedenen Zelltypen innerhalb eines Neuromasten (siehe dazu Flock, 1967; Flock, Jörgensen und

Russel, 1973; Jörgensen und Flock, 1973; Flock und Jörgensen, 1974).

Abbildung 8: Ranvierknoten in den afferenten Fasern

a) zeigt schematisiert die Lage der Ranvierknoten in einer Gruppe mit fünf Neuromasten, wie sie aus den elektronenmikroskopischen Schnitten rekonstruiert wurde. Der im Schema umrandete Ranvierknoten und der Ast vom Ranvierknoten bis kurz vor der Basalmembran sind in b) dargestellt. Auch in dem nicht abgebildeten Stück des Nervenastes bis zur Basalmembran befindet sich kein weiterer Ranvierknoten. c) zeigt den benachbarten endständigen Neuromasten derselben Gruppe mit seiner Innervierung. Das Ende der Myelinscheide im Bereich der Basalmembran ist bei diesem Schnitt nicht erfaßt worden. Auch in der nicht dargestellten Verlängerung der Nerven bis zu dem in b) gezeigten Ranvierknoten befindet sich kein weiterer Ranvierscher Schnürring. In d) werden afferente Fasern zwischen zwei Aufzweigungen dargestellt. Auch in diesem Bereich befindet sich kein Ranvierknoten.

af. I; II_{1,2}=afferente Fasern; BM=Basalmembran;
CNS=Zentralnervensystem; ef.=efferente Fasern;
HC=Haarzellen; N_{a,b,c}=benachbarte Neuromasten;
RK=Ranvierknoten; SC=Stützzellen; MC=Mantelzellen.

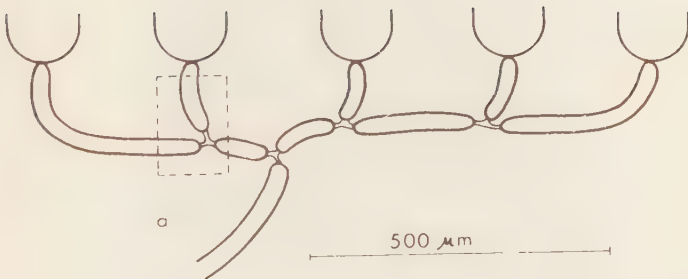
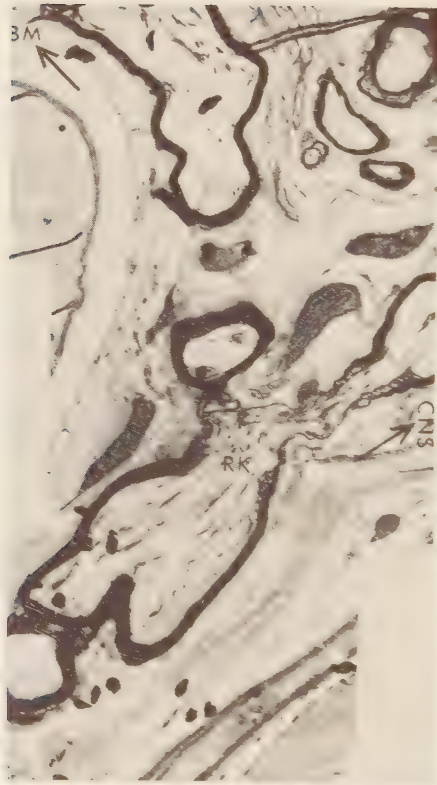
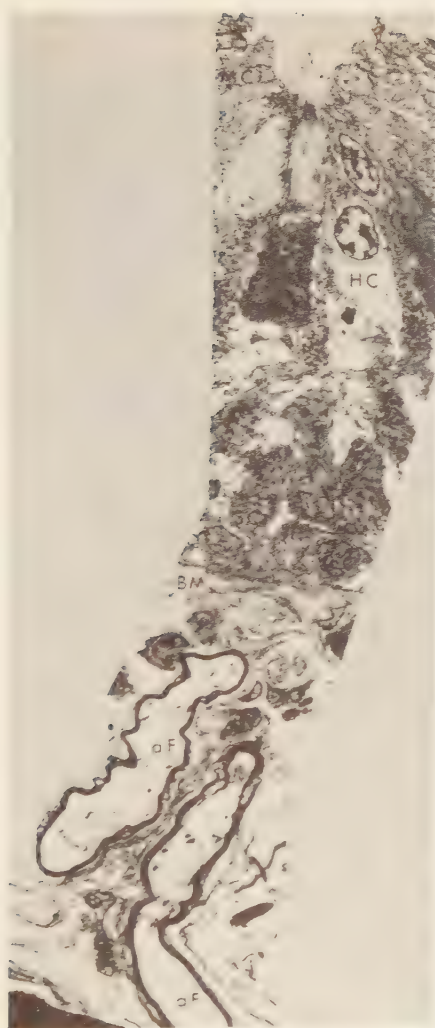


Abbildung 8 a



10 μ m

Abbildung 8 b



20 μ m

Electron Micrograph



20 μ m

Abbildung 8d

II. Elektrophysiologie

1. Vorversuche

a) Vergleich der Impulse von Stammfaser, Kollateralen und Ästen

Nachdem der Verlauf der afferenten Fasern für Gruppen mit unterschiedlicher Neuromastenanzahl pro Gruppe und die Lage der Ranvierknoten bekannt sind (s. Abb.6 und 8), wird versucht, von den Kollateralen und Ästen der Fasern innerhalb einer Gruppe abzuleiten. Dazu wird mit einer isolierten Wolframnadel von der Hautunterseite her an verschiedenen Stellen der Gruppe eingestochen, die Ableitstellen markiert (Pabst, 1973 b) und die von den Fasern erhaltene Aktivität verglichen mit der gleichzeitig abgeleiteten Antwort der Stammfaser. Es zeigt sich, daß an allen Punkten der Kollateralen und Äste die gleiche Antwort abgeleitet wird wie von der Stammfaser. Das gleiche Ergebnis erhält man, wenn man die Wolframelektrode oder eine metallgefüllte Kapilarelektrode von der Hautoberseite her nacheinander in die einzelnen Neuromasten einsticht und so von den Endpunkten der Nervenäste ableitet (s. Methodik). Auch hier stimmt das in den Neuromasten abgeleitete Impulsmuster mit der von der Stammfaser erhaltenen Antwort überein.

b) Zwei-Punkt-Ableitung innerhalb einer Neuromastengruppe

Als nächstes wird versucht, mit zwei Elektroden in zwei Neuromasten einer Gruppe gleichzeitig abzuleiten. Abbildung 9 zeigt als Ergebnis die Aktivität einer isolierten Neuromastengruppe mit fünf Neuromasten, abgeleitet mit zwei metallgefüllten Mikroelektroden in den in der Skizze dargestellten Neuromasten. Es zeigt sich hier und in allen anderen Beispielen, daß - ebenso wie bei der Ableitung von einem Neuromasten

und der Stammfaser-in beiden Neuromasten das gleiche Impulsmuster abgeleitet wird.

Die Zuordnung der Impulse zu einer der beiden afferenten Fasern geschieht durch die selektive Auslenkung der Sinneshaare eines Neuromasten (Neuromast 1 in der Skizze) und der damit bewirkten Aktivitätserhöhung in einer der beiden Fasern. Auch hier wird wie bei der Spontanaktivität in beiden Punkten die gleiche Antwort abgeleitet. Bei hoher zeitlicher Auflösung erkennt man, daß bei der selektiven Reizung eines Neuromasten (Neuromast 1) die Impulse zuerst in E_1 und anschließend in E_2 abgeleitet werden (Abb. 9 c). Wir erhalten bei Reizung in Neuromast 1 also positive Δt -Werte (s. Methodik).

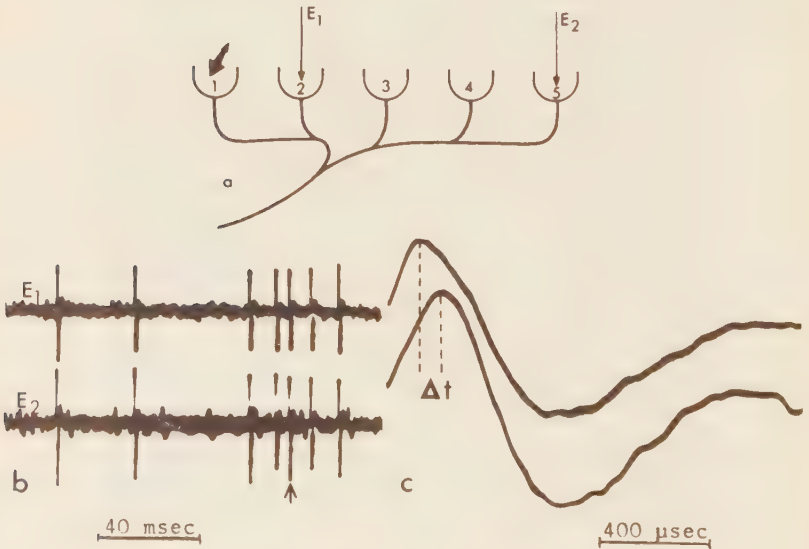


Abbildung 9: Aktivität einer Gruppe mit fünf Neuromasten,
abgeleitet von Neuromast 2 und 5

a) Skizze der Neuromastengruppe mit Lage der

Ableitelektroden E_1 und E_2 und Ort der Reizung (Neuromast 1). Aktivitätserhöhung bei Reizung eines Neuromasten. c) der in b) durch Pfeil gekennzeichnete Impuls mit hoher zeitlicher Auflösung.

2. Impulsentstehung bei selektiver Reizung eines Neuromasten

Im folgenden wird bei gleicher Elektroden- und Reizanordnung wie in Abb. 9 von einer Gruppe mit fünf Neuromasten abgeleitet (Abb. 10 a). Zuerst sollen die Δt -Werte aufgetragen werden, wie sie bei zufällig ausgewählten Reizserien und dazwischenliegenden Pausen (Spontanaktivität) nacheinander auftreten (Abb. 10 b). Es zeigt sich, daß bei der Spontanaktivität die Werte sowohl im positiven wie auch im negativen Bereich liegen, während bei Reizung eines Neuromasten der Gruppe (Neuromast 1) nahezu alle Werte sich im positiven Bereich zwischen + 50 und + 180 μsec befinden. Die Reizung bewirkt also, daß nur bestimmte Δt -Werte, in diesem Fall positive Δt -Werte, besonders häufig auftreten. Um welche Δt -Werte es sich handelt, zeigt Abb. 10 c: Wir erhalten bei der Filmauswertung ein Maximum in + 90 μsec ($\overline{\Delta t} = + 92 \pm 44 \mu\text{sec}$). Die Computerauswertung bestätigt dieses Ergebnis: Abb. 10 d und e zeigen einmal die Häufigkeitsverteilung der positiven Δt -Werte bei der Spontanaktivität (Abb. 10 d) und die Veränderung dieser Häufigkeitsverteilung der spontanen Impulse durch Reizserien (Abb. 10 e). Bei der Spontanaktivität allein ergibt sich ein Maximum in + 50 μsec , durch zusätzliche Reizung erhält man ein zweites Maximum in + 90 μsec . Vergleicht man die Häufigkeiten von Spontanaktivität und von Spontanaktivität plus Reiz mit Hilfe des χ^2 -Tests bei vorgegebener Sicherheitswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5 \%$, so stellt man einen signifikanten Unterschied fest.

Das Ergebnis, daß bei der selektiven Reizung des Neuromasten 1 die Impulse einer Faser früher in E_1 als in E_2 abge-

leitet werden, sagt noch nichts aus über Lage und Anzahl der Impulsentstehungsorte in der Neuromastengruppe. Es besagt nur, daß bei Reizung eines Neuromasten eine Verteilung der Intervalle auftritt, für die wahrscheinlich nur ein Impulsentstehungsort verantwortlich ist. Gesichert ist, daß, unabhängig von der Lage dieses Impulsentstehungsortes bei Reizung, die dort entstandenen Impulse in jeden Ast der Faser eindringen und daß die Impulse in E_1 zuerst ankommen. Ob dieser eine Impulsentstehungsort an der ersten Aufzweigung der Stammfaser in zwei Kollaterale liegt (und damit am ersten Ranvierknoten der fortführenden Faser), oder in der Nähe des gereizten Neuromasten (zum Beispiel an der Basalmembran oder am ersten Ranvierknoten proximal der Basalmembran), kann nicht entschieden werden. Daß die Verteilung der Δ t-Werte der Spontanaktivität nicht zu dem gleichen Maximum führt, das sich bei der Reizung ergibt, könnte aber bereits auf unterschiedliche Impulsentstehungsorte innerhalb der Neuromastengruppe hindeuten.

Abbildung 10: Verteilung der Δ t-Werte bei einer Gruppe von fünf Neuromasten

a) skizziert die Elektrodenanordnung (in Neuromast 2 und 5) und den Reizort (Neuromast 1). In b) sind die nacheinander auftretenden Δ t-Werte bei Reiz und Spontanaktivität aufgetragen. c) stellt die Häufigkeitsverteilung der auftretenden Δ t-Werte bei Reizung dar (Filmauswertung). d) und e): Häufigkeitsverteilung der positiven Δ t-Werte bei Spontanaktivität (d) bzw. Veränderung der Häufigkeitsverteilung von Spontanaktivität durch Reizserien (e) (Computerauswertung). Die Anzahl der Impulse bei Spontanaktivität (S) und bei Reiz (R) stehen im Verhältnis von ca. 2:1 (e). Auf die Darstellung der negativen Δ t-Werte in d) und e) wird verzichtet, die Häufigkeit nimmt im negativen Bereich ab.

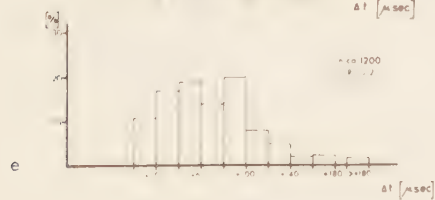
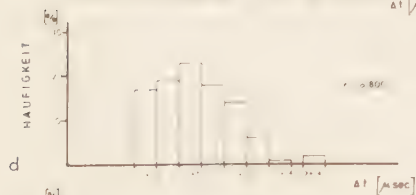
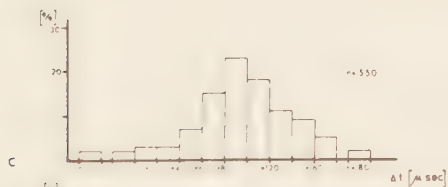
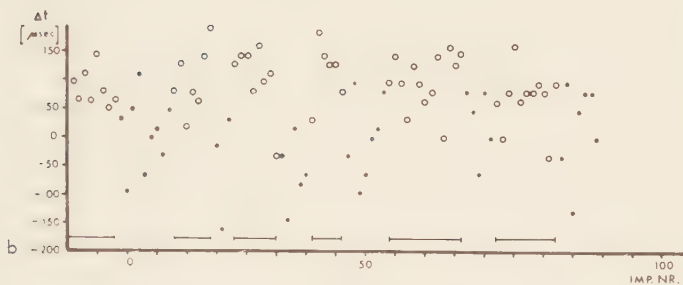
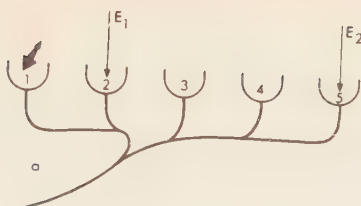


Abbildung 10

3. Multiple Impulsentstehungsorte

Im folgenden soll durch zwei unterschiedliche Reizorte innerhalb derselben Gruppe (Abb. 11 a) geprüft werden, ob ein oder mehrere Impulsentstehungsorte pro Gruppe existieren. Trägt man die Δt -Werte bei Reizserien und den dazwischenliegenden Pausen nacheinander auf (Abb. 11 b, f), so erkennt man wiederum (vergl. Abb. 10 b), daß bei der Spontanaktivität die Δt -Werte sowohl im positiven wie im negativen Bereich liegen, während bei Reizung des Neuromasten 1 (Abb. 11 b) überwiegend positive Δt -Werte im Bereich von 0 bis +120 μsec , bei Reizung des Neuromasten 7 (Abb. 11 g) überwiegend negative Δt -Werte im Bereich von 0 bis -120 μsec auftreten. Abb. 11 c und g zeigen diese Δt -Werte in einem Häufigkeitsdiagramm: Bei Reizung von Neuromast 1 ergibt sich ein Maximum bei +50 μsec ($\overline{\Delta t} = 48 \pm 36 \mu\text{sec}$). Bei Reizung von Neuromast 7 erhält man ein Maximum bei -30 μsec , ($\overline{\Delta t} = -30 \pm 37 \mu\text{sec}$). Die beiden Mittelwerte sind signifikant verschieden ($p < 1\%$; t-Test). Die Computerauswertung (Abb. 11 d und h) führt zu folgendem Ergebnis: Reiz in Neuromast 1 bewirkt Maximum in +50 μsec , Reiz in Neuromast 7 ein Maximum in -70 μsec . Die Verteilung der Δt -Werte bei Spontanaktivität (Abb. 11 e, i) zeigt, daß die Maxima in Abb. 11 d und h nicht von den spontanen Impulsen zwischen den Reizserien (s. Methode) stammen, sondern von den Impulsen aus Reizserien. Vergleicht man die Häufigkeiten von Spontanaktivität und Spontanaktivität plus Reiz (Abb. 11 d mit 11 e und Abb. 11 h mit 11 i) mit Hilfe des χ^2 - Tests bei vorgegebener Sicherheitswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$, so stellt man einen signifikanten Unterschied fest. Die Maxima bei der Filmauswertung und bei der Computerauswertung differieren zwar etwas in ihrer Lage (bei Abb. 11 g und h), (der Betrag der Δt -Werte ist abhängig von dem Auswertverfahren, s. Methodik), beide Auswertmethoden führen aber prinzipiell zu dem gleichen Ergebnis: Bei Reizung des Neuromasten 1 treffen die Impulse früher in E_1 als in E_2 ein und bei Reizung des Neuromasten 7 früher in E_2 als in E_1 .

Dies ist nur mit der Existenz von mehr als einem Impulsenstehungsort zu erklären; denn bei einem einzigen Impulsenstehungsort (z.B. an der Aufzweigung der Stammfaser in zwei Kollaterale) müßten bei beiden Reizorten die Impulse zuerst in E_1 abgeleitet werden.

Abbildung 11: Δ t-Werte einer Gruppe mit sieben Neuromasten

a) skizziert die Elektrodenanordnung (Neuromast 4 und 5) und die Reizorte (Neuromast 1 und 7). In b) sind die nacheinander auftretenden Δ t-Werte bei Reizung von Neuromast 1 und bei Spontanaktivität aufgetragen. c) stellt die Häufigkeitsverteilung der Δ t-Werte bei Reizung von Neuromast 1 dar (Filmauswertung). d) und e) zeigen die Häufigkeitsverteilungen der Δ t-Werte bei Reiz (d) und Spontanaktivität (e) (Computerauswertung). Die Abbildungen f bis i entsprechen den Darstellungen b bis e, jedoch bei einer Reizung von Neuromast 7. Das Verhältnis von Anzahl der Impulse bei Spontanaktivität und bei Reiz (S:R) ist für die Computerauswertung angegeben. Die Mittelwerte von c) und g) sind signifikant verschieden ($p < 1 \%$). Auf eine Darstellung der negativen Δ t-Werte bei d) und e) und der positiven Δ t-Werte bei h) und i) wird verzichtet, die Häufigkeit nimmt mit den negativen (d, e) bzw. positiven (h, i) Δ t-Werten ab.

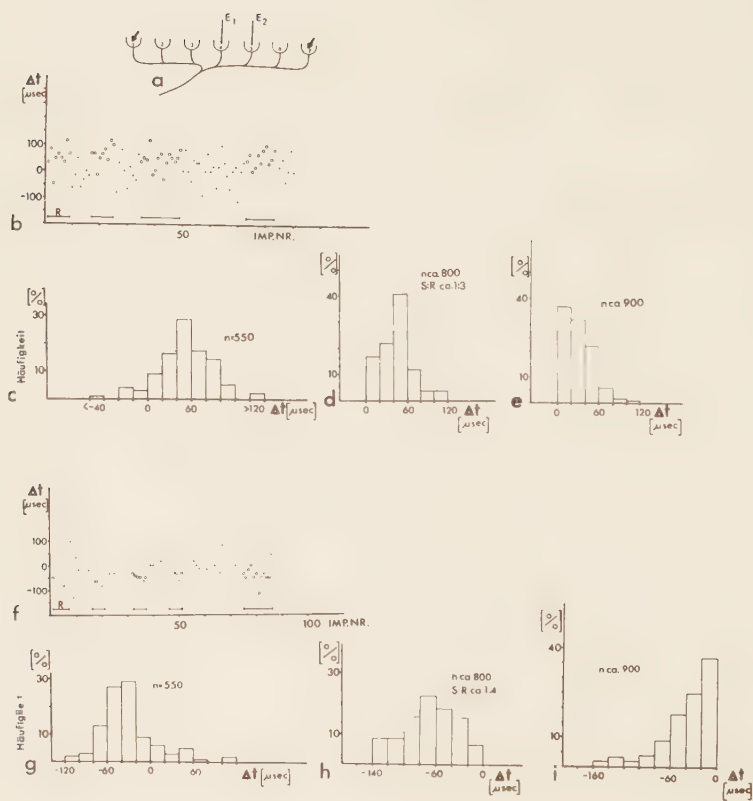


Abbildung 11

Einen weiteren Beweis für mehrere Impulsentstehungsorte liefert die in Abb. 12 skizzierte Elektrodenanordnung: Beide Elektroden leiten von Neuromasten ab, die von den Ästen einer Kollateralen innerviert werden, und beide Reizorte liegen im Bereich einer Kollateralen. Bei Reizung von Neuromast 8 werden die Impulse ca. 110 μ sec eher in E_1 , bei Reizung von Neuromast 12 ca. 120 μ sec eher in E_2 abgeleitet. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß nicht nur ein, sondern mehrere Impulsentstehungsorte pro Kollaterale existieren. Wenn sich schon mehrere Impulsentstehungsorte in einer Kollateralen nachweisen lassen, so stellt sich die Frage, wieviel Impulsentstehungsorte insgesamt in einer Neuromastengruppe existieren und wo sie liegen.

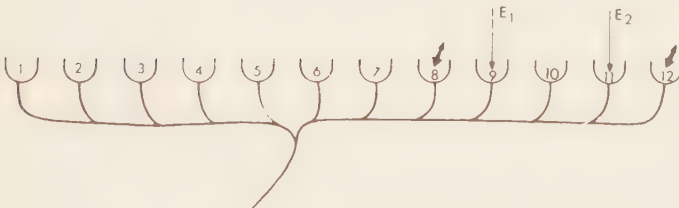


Abbildung 12: Anordnung der Ableitelektroden E_1 , E_2 und Lage der Reizorte zur Bestimmung der Δt -Werte in einer Kollateralen

4. Lage der Impulsentstehungsorte

Will man untersuchen, ob jedem Neuromast ein Impulsentstehungsort zugeordnet ist und feststellen, wo dieser Impulsentstehungsort liegt, so eignen sich hierzu am besten die endständigen Neuromasten jeder Gruppe (Neuromast 1 und 2, bzw. 4 und 5, s. Abb. 13). Dies soll anhand einer Skizze erläutert werden (Abb. 13).

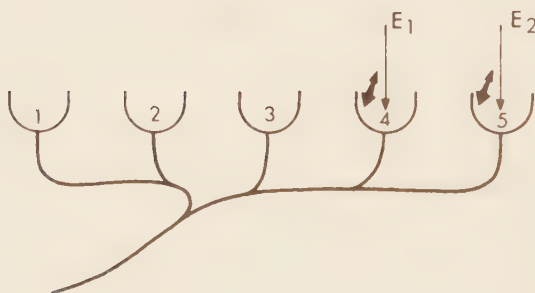


Abbildung 13: Skizze einer Neuromastengruppe zur Untersuchung über die Lage der Impulsentstehungsorte

Aus den morphologischen Untersuchungen hatte sich ergeben, daß die beiden endständigen Neuromasten jeder Gruppe (z.B. Neuromast 1 und 2) einen gemeinsamen ersten Ranvierknoten an der letzten Aufzweigung der Faser besitzen, da zwischen Aufzweigung und dem Ende der Myelinisierung an der Basalmembran bei den von mir untersuchten Objekten keine weiteren Schnürringe existieren. Bei der skizzierten Elektrodenanordnung gibt es nun zwei Möglichkeiten, welche Δt -Werte auftreten

könnten, erstens: Sowohl bei Reizung in Neuromast 4 als auch in Neuromast 5 werden die Impulse nahezu gleichzeitig in E_1 und E_2 abgeleitet ($\Delta t = 0$). Zweitens: Bei Reizung in Neuromast 4 werden die Impulse zuerst in E_1 ($\Delta t = +$), bei Reizung in Neuromast 5 zuerst in E_2 ($\Delta t = -$) abgeleitet. Im ersten Fall kann das angenommene Ergebnis darauf beruhen, daß entweder Neuromast 4 und 5 einen gemeinsamen Impulsentstehungsort an der letzten Aufzweigung der Faser (also an ihrem gemeinsamen Ranvierknoten), oder proximal dieses gemeinsamen Ranvierknotens haben. Im zweiten Fall bedeutet dies, daß ein Impulsentstehungsort pro Neuromast besteht. Unter der Voraussetzung, daß kein Ranvierknoten zwischen Aufzweigung und Basalmembran existiert, kann man darüberhinaus feststellen, daß der erste Impulsentstehungsort vor dem Beginn der Myelinisierung, also an der Basalmembran oder zwischen Basalmembran und Sinneszelle entsteht. Die folgenden Untersuchungen sollen nun zeigen, welche der erwähnten Möglichkeiten zutrifft.

Zwei Elektroden in benachbarte Neuromasten einer Gruppe zu plazieren und dieselben Neuromasten gleichzeitig zu reizen, ist technisch schwierig. Um zu beweisen, daß es sich bei den Ergebnissen aber dennoch nicht um einen Artefakt handelt, sollen drei Beispiele Aufschluß über den Impulsentstehungsort geben. Das erste Beispiel zeigt Abbildung 14: Hier gelang nur der Reiz im Neuromast 2 (Abb. 14 a). Wie bereits bei Abbildung 10 und 11 liegen bei der Spontanaktivität die Δt -Werte im positiven und negativen Bereich. Bei Reizung des Neuromasten 2 erhält man überwiegend positive Δt -Werte im Bereich von 0 bis +120 μsec (Abb. 14 b). Bei Auswertung allein der Impulse aus Reizserien (Filmauswertung) ergibt sich, daß die Impulse im Durchschnitt $58 \pm 29 \mu\text{sec}$ eher in E_1 als in E_2 abgeleitet werden (Abb. 14 c). Wie die Computerauswertung zeigt, ergibt sich bei der Spontanaktivität ein Maximum in dem Intervall 0 bis 20 μsec (Abb. 14 d). Bei beginnender Reizung entsteht ein zusätzliches zweites

Maximum in +50 μ sec (Abb. 14 e). Vergleicht man die Häufigkeiten von Spontanaktivität und von Spontanaktivität plus Reizung mit Hilfe des χ^2 - Tests bei vorgegebener Sicherheitswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$, so stellt man einen signifikanten Unterschied fest.

Auch wenn bei diesem Versuch eine Reizung des Neuromast 3 nicht gelang, so zeigt doch bereits dieses Beispiel, daß ein Impulsgenerierungsort pro Neuromast existiert:

1. Die Verteilung der Δt -Werte bei Spontanaktivität unterscheidet sich signifikant von der Verteilung bei Spontanaktivität plus Reiz, das heißt - neben dem Hinweis, daß mehr als ein Impulsentstehungsort in der Gruppe existiert -, daß der gemessene Betrag von 58 μ sec nicht auf einer konstanten Zeitverschiebung zwischen den Elektroden E_1 und E_2 beruht.
2. Lage der Impulsentstehungsort an der Aufzweigung der Stammfaser in 2 Kollaterale oder an der Gabelung der Kollateralen zu Neuromast 2 und 3, so würde man in beiden Fällen einen Δt -Wert im Bereich von 0 μ sec erwarten.

Im zweiten Beispiel (Abb. 15) erfolgt die Reizung von zwei endständigen Neuromasten. Um die Reizserien deutlich von der Spontanaktivität zu trennen, wird das Präparat so tief abgekühlt, bis die Spontanaktivität aufhört (Murray, 1956). Erst jetzt wird gereizt. Bei Reizung von Neuromast 1 beträgt der berechnete Mittelwert $\overline{\Delta t} = -4 \pm 32$ μ sec (Abb. 15 c). Die Impulse sind also fast gleichzeitig in E_1 und in E_2 . Bei Reizung in Neuromast 5 zeigt die Häufigkeitsverteilung (Abb. 15 e) nicht nur ein Maximum in + 50 μ sec, sondern zusätzlich eine Anhäufung von Δt -Werten zwischen - 60 und - 100 μ sec. Dies erklärt Abb. 15 d: Man sieht, daß die meisten Reize positive Δt -Werte hervorrufen. Dazwischen gibt es aber vereinzelt Reize, die zu überwiegend negativen Δt -Werten führen. Wenn man voraussetzt, daß die Reizung eines Neuromasten nicht einmal positive und einmal negative Δt -Werte

hervorrufen kann, müssen die negativen und positiven Δt -Werte durch Reizung unterschiedlicher Neuromasten entstanden sein (s. Abb. 13). Während man die positiven Δt -Werte bei Reizung des Neuromasten 5 erwartet, erhält man die negativen Δt -Werte voraussichtlich bei Reizung von Neuromast 4. (Das bestätigt auch Abb. 16 e). Da die Reiznadel, um Neuromast 5 zu reizen, auf der Seite neben der Ableitelektrode E_1 plaziert werden mußte, die an Neuromast 4 grenzt, ist es sehr wohl denkbar, daß in diesen Fällen tatsächlich Neuromast 4 und nicht Neuromast 5 gereizt wurde. Daß bei Abbildung 15 d der achte Reiz zuerst negative und dann positive Δt -Werte hervorruft, könnte daher kommen, daß zuerst Neuromast 4 gereizt wird und mit einer bestimmten zeitlichen Verzögerung Neuromast 5. Wird bei dieser Hypothese Neuromast 5 stärker gereizt als Neuromast 4, so erhält man positive Δt -Werte (siehe dazu Kapitel III). Wenn diese Interpretation richtig ist, können die Reizserien mit überwiegend negativen Δt -Werten bei der Berechnung des Mittelwertes weggelassen werden, es folgt dann $\overline{\Delta t} = 55 \pm 37 \mu\text{sec}$. Dieser Mittelwert und der Mittelwert von der Reizung in Neuromast 1 sind signifikant verschieden ($p < 1\%$; t-Test).

Im dritten Beispiel (Abb. 16) geschieht die Reizung an drei Stellen innerhalb der Gruppe: Bei Reizung in Neuromast 1 (Abb. 16 a) ergibt sich eine mittlere Ankunftszeitdifferenz $\overline{\Delta t} = 17 \pm 61 \mu\text{sec}$ (Abb. 16 c), bei Reizung in Neuromast 4 beträgt die berechnete mittlere Ankunftszeitdifferenz $\overline{\Delta t} = 65 \pm 64 \mu\text{sec}$ (Abb. 16 e). Bei Reizung im Neuromast 5 zeigt Abbildung 16 g zwei Maxima, eins im Intervall zwischen - 50 und - 75 μsec und ein zweites kleines Maximum im Intervall zwischen + 50 und + 75 μsec . Bei der Überlegung, woher das zweite Maximum bei der Reizung in Neuromast 5 kommt, sieht man, wie bei Abbildung 15, daß Reizserien immer im Mittel entweder positive oder negative Ankunftszeitdifferenzen zeigen (Abb. 16 f). Dies geschieht nur bei Reizung in Neuromast 5 (s. zum Vergleich Abb. 16 b, d). Auch hier sind es wahrscheinlich geringfügige Verschiebungen der Reiznadel, die dazu füh-

ren, daß einmal der gewünschte Neuromast gereizt wird und zum anderen der benachbarte. Da die Reizelektrode auch in diesem Beispiel zwischen den beiden endständigen Neuromasten plazierte werden mußte, ist diese Interpretation sehr wahrscheinlich. Läßt man bei der Berechnung des Mittelwertes die Reizserien mit den überwiegend positiven Δt -Werten weg, so erhält man: $\overline{\Delta t} = -46 \pm 50 \mu\text{sec}$. Alle drei erwähnten Mittelwerte sind signifikant verschieden ($p < 1\%$; t-Test). Vergleicht man jetzt die gewonnenen Ergebnisse mit den zu Beginn des Kapitels aufgestellten Hypothesen, so sieht man, daß der zweite Fall zutrifft, also ein Impulsentstehungs-ort pro Neuromast existiert.

Abbildung 14: Δt -Werte einer Gruppe mit drei Neuromasten
a) Elektrodenanordnung (Neuromast 2 und 3) und Reizort (Neuromast 2). b) Nacheinander auftretende Δt -Werte bei Reiz und Spontanaktivität. c) Häufigkeitsverteilung der Δt -Werte bei Reizung (Filmauswertung). d) und e) Häufigkeitsverteilung der Δt -Werte bei Spontanaktivität (d) bzw. Veränderung der Häufigkeitsverteilung von Spontanaktivität durch Reizserien (e) (Computerauswertung). Auf die Darstellung der negativen Δt -Werte in d) und e) wird verzichtet, die Häufigkeit nimmt im negativen Bereich ab. Die Anzahl der Impulse bei Spontanaktivität (S) und bei Reiz (R) stehen im Verhältnis von ca. 2:1 (e).

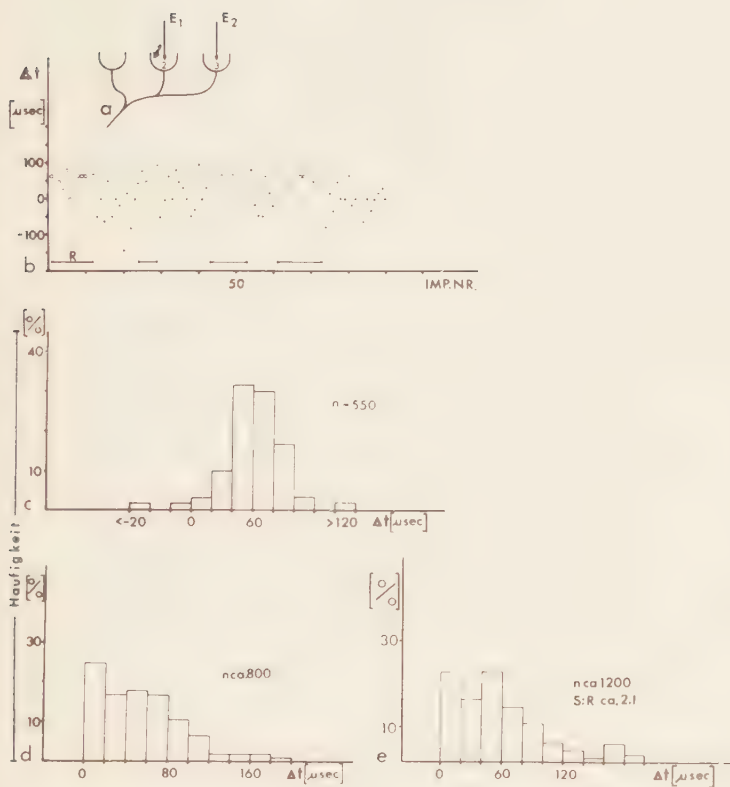


Abbildung 14

Abbildung 15: Δt -Werte einer Gruppe mit fünf Neuromasten nach Abkühlung

a) Elektrodenanordnung (Neuromast 4 und 5) und Reizorte (Neuromast 1 und 5). b) Nacheinander auftretende Δt -Werte bei Reiz (Neuromast 1). c) Häufigkeitsverteilung der Δt -Werte bei Reizung (Neuromast 1) (Filmauswertung). d) und e) entsprechen b) und c) bei Reizung in Neuromast 5. Die doppelt markierten Reizserien in d) stammen wahrscheinlich von Reizung in Neuromast 4 statt 5.

Abbildung 16: Δt -Werte einer Gruppe mit fünf Neuromasten

a) Elektrodenanordnung (Neuromast 4 und 5) und Reizorte (Neuromast 1, 4 und 5). b), d) und f) nacheinander auftretende Δt -Werte bei Reiz und Spontanaktivität. c), e) und g) Häufigkeitsverteilung der Δt -Werte bei Reizung (Filmauswertung). Die doppelt markierten Reizserien in f) stammen wahrscheinlich von Reizung in Neuromast 4 statt 5.

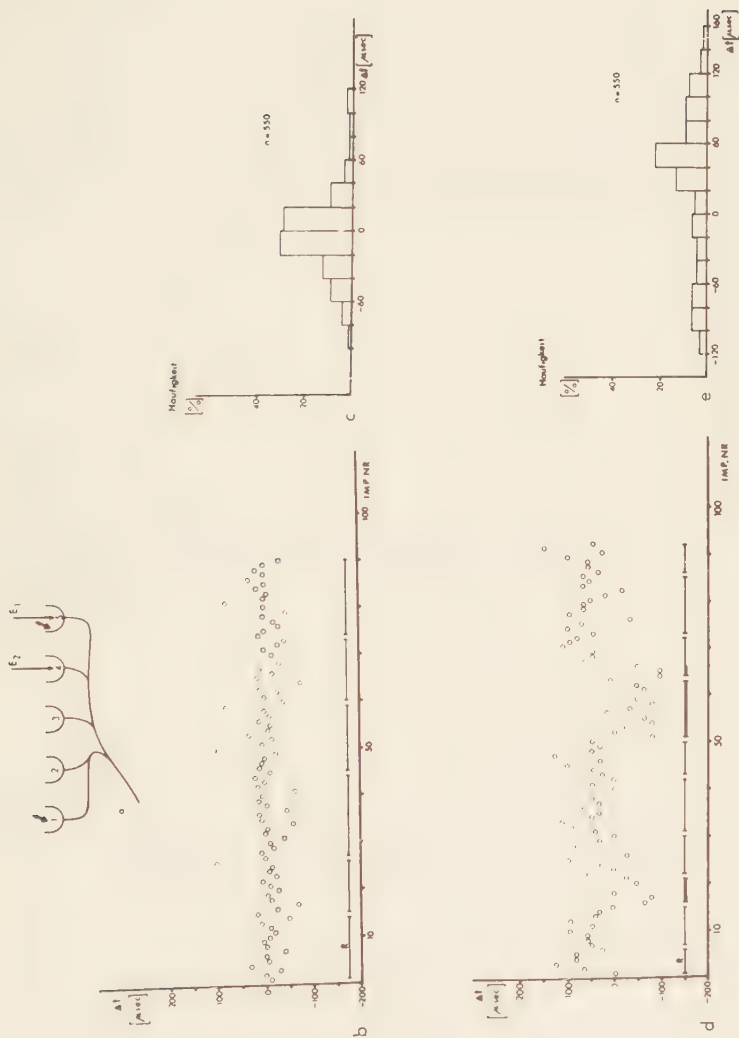


Abbildung 15

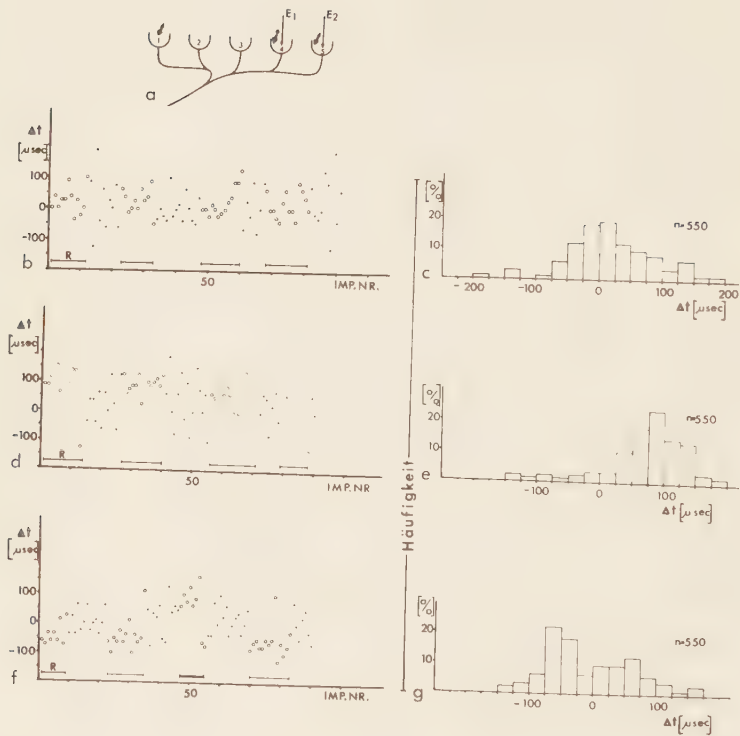


Abbildung 16

Aus den bisherigen morphologischen und elektrophysiologischen Ergebnissen ergibt sich folgendes Gesamtschema (Abb. 17): Es existiert ein Impulsentstehungsort pro Neuro-
mast und zwar entstehen die Impulse aller Wahrscheinlichkeit nach vor der Myelinisierung der afferenten Fasern, da sich nach den von mir untersuchten Gruppen zwischen Aufzweigung und Basalmembran keine weiteren Ranvierknoten befinden. Die Impulse breiten sich von jedem dieser Impulsentstehungsorte sowohl orthodrom als auch antidrom innerhalb einer Gruppe aus.

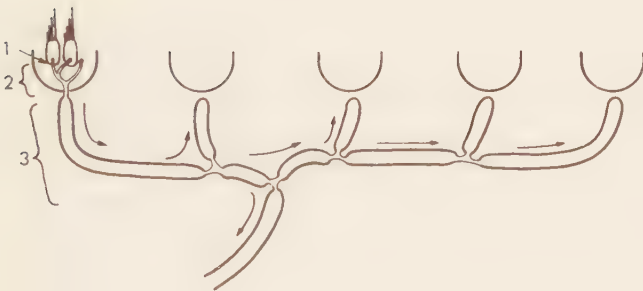


Abbildung 17: Zusammenfassendes Schema aus den morphologischen und elektrophysiologischen Ergebnissen sowie aus Literaturdaten

1. Erzeugung von EPSP's in den unmyelinisierten Ästen durch Ausschüttung von Transmittersubstanz.
2. Summation der EPSP's und Entstehung der Impulse im Bereich der unmyelinisierten Fasern zwischen Sinneszellen und Basalmembran.
3. Ausbreitung der Impulse in Richtung ZNS und

in alle terminalen Endigungen der Faser.

5. Leitungsgeschwindigkeit in den afferenten Fasern

In diesem Kapitel sollen die Leitungsgeschwindigkeiten in den Ästen und Kollateralen der afferenten Fasern gemessen werden. Hierzu werden die bereits beschriebenen Neuromastengruppen mit den Ankunftszeitdifferenzen und den geschätzten Entfernungen herangezogen (Abb. 18). Für die Entfernungen wird ein mittlerer Abstand von 250 μm zwischen den Neuromasten und damit zwischen den Aufzweigungen angenommen (Mittelwert aus 50 Abmessungen an 12 Neuromastengruppen). Für die Strecke von der Abzweigung bis zur Basalmembran ergibt sich ein mittlerer Wert von 100 μm .

Der Mittelwert aus den in Abb. 18 dargestellten Leitungsgeschwindigkeiten beträgt: $\bar{v} = 6,2 \pm 1,5 \text{ m/sec}$. Da der Durchmesser der afferenten Fasern im Neuromastbereich und in den Stammfasern etwa gleich groß ist, soll der angegebene Wert von $\bar{v} = 6,2 \text{ m/sec}$ mit der Leitungsgeschwindigkeit in der Stammfaser verglichen werden. Hier beträgt die Leitungsgeschwindigkeit unter vergleichbaren experimentellen Bedingungen etwa 20 m/sec (Görner, pers. Mitteilung). Setzt man jetzt die unterschiedlichen Abstände zwischen den Ranvierknoten in der Stammfaser (ca. 1 mm) und in den Kollateralen im Neuromastbereich (ca. 250 μm) in Beziehung zu den dazugehörigen Leitungsgeschwindigkeiten, so sieht man, daß die beiden Leitungsgeschwindigkeiten recht gut übereinstimmen. Die Abstände der Ranvierknoten verhalten sich wie 4:1 zueinander und der Unterschied in der Leitungsgeschwindigkeit ist ebenfalls mit einem Faktor 3 - 4 behaftet.

Die untersuchten Objekte zeigen häufig eine etwas höhere Leitungsgeschwindigkeit in orthodromer als in antidromer Richtung. So ergibt sich bei den in Abb. 18 dargestellten Versuchen für die orthodrome Leitungsgeschwindigkeit

$\bar{v} = 6,6 \pm 1,8$ m/sec und für die antidrome Leitungsgeschwindigkeit $\bar{v} = 5,8 \pm 1,4$ m/sec. Der Unterschied zwischen orthodromer und antidromer Leitungsgeschwindigkeit ist aber nicht signifikant (t-Test). Eine Entscheidung zu treffen, ob die orthodrome oder die antidrome Leitungsgeschwindigkeit tatsächlich höher ist, wird dadurch erschwert, daß sowohl durch die Elektrodenplatzierung als auch durch das Auswertverfahren eine konstante Ankunftszeitdifferenz zwischen den Elektroden vorgetäuscht werden kann. Das bedeutet aber, daß ein gemessener Unterschied zwischen orthodromer und antidromer Leitungsgeschwindigkeit in Wirklichkeit gar nicht existieren muß, sondern daß beide Leitungsgeschwindigkeiten gleich, aber um einen konstanten Betrag in positiver oder negativer Richtung verschoben sein könnten.

Abbildung 18: Leitungsgeschwindigkeiten in den afferenten Fasern

Die Skizzen zeigen die Ausbreitungsrichtung der Impulse zwischen den von den Ableitelektroden (E) penetrierten Neuromasten. Unter Wegstrecken sind nur die Entfernungen aufgeführt, für die der Betrag der Ankunftszeitdifferenz gilt (s. Methodik). a) zeigt die Werte für die beiden endständigen Neuromasten, b) für zwei benachbarte Neuromasten in einer Kollateralen, c) für zwei weiter voneinander entfernte Neuromasten.

Impulsausbreitungsrichtung	Wegstrecke s (μm)	Ankunftszeitdifferenz Δt (μsec)	Leitungsgeschwindigkeit v (m/sec)

a)			
	350	55	6,4
	350	58	6
	350	46	7,6
	350	65	5,4

b)			
	250	48	5,2
	250	30	8,3

c)			
	500	110	4,6
	500	120	4,2
	750	92	8,2

Abbildung 18

III. Impulsinteraktion innerhalb einer Neuromastengruppe

Wenn tatsächlich ein Impulsentstehungsort pro Neuromast in den afferenten Fasern existiert, dann stellt sich die Frage, auf welche Weise die in den einzelnen Ästen entstehenden Impulse in der fortleitenden Stammfaser integriert werden. Hier müssen zwei unterschiedliche Zustände untersucht werden, erstens Interaktion bei Reizung und zweitens bei spontaner Aktivität der Neuromastengruppe.

1. Impulsinteraktion bei Reizung

a) Vergleich der maximalen Frequenzen bei Reizung eines Neuromasten und der gesamten Gruppe

Wird eine Neuromastengruppe gereizt, so ergibt sich für jeden Reiz ein charakteristisches Frequenzmaximum und ein anschließender Abfall der Frequenz (Görner, 1961). Die Höhe dieses Frequenzmaximums bei übermaximaler Reizung soll in diesem Kapitel bei Reizung einer gesamten Gruppe und eines einzelnen Neuromasten verglichen werden. Reizt man einen einzelnen Neuromasten übermaximal (Vorschubgeschwindigkeit der Reiznadel = 20 mm/sec) in seiner reizwirksamsten Richtung (im Winkel von 90 Grad zur Längsachse der Neuromastengruppe), so sind die erreichbaren maximalen Frequenzen in der afferenten Faser identisch den erreichbaren maximalen Frequenzen bei übermaximaler Reizung (Vorschubgeschwindigkeit der L-förmig gebogenen Reiznadel = 20 mm/sec) aller Neuromasten einer Gruppe im 90 Grad Winkel. Dies deutet darauf hin, daß die erreichbare maximale Frequenz bei gleichzeitiger Reizung aller Neuromasten nicht eine Folge summierter Aktivitäten der einzelnen Neuromasten ist, sondern bereits durch die Reizung eines einzigen Neuromasten erreicht werden kann.

Um sicher zu gehen, daß die Erregung tatsächlich auf der Reizung eines einzigen Neuromasten beruht, wird ein Neuromast

isoliert, indem alle, bis auf einen Neuromasten der Gruppe, mit Hilfe eines hochfrequenten Thermokauters (Diathermiegerät) ausgeschaltet werden. Durch diese Zerstörung mehrerer Neuromasten verschwindet die Spontanaktivität der gesamten Gruppe. Während die behandelten Neuromasten nicht mehr auf mechanische Reize reagieren, läßt sich der isolierte Neuromast weiterhin reizen. Wird eine intakte Gruppe (z.B. mit fünf Neuromasten) übermaximal gereizt, anschließend ein Neuromast isoliert (hierbei ist es ohne Bedeutung, um welchen Neuromasten der Gruppe es sich handelt), dieser ebenfalls übermaximal gereizt und vergleicht man dann die erreichten maximalen Frequenzen vor und nach dem Eingriff, so stellt man fest, daß beide Spitzenfrequenzen nahezu identisch sind. Vor dem Eingriff beträgt die (gemittelte) maximale Frequenz bei dem gewählten Beispiel 490 Hz und nach dem Eingriff 470 Hz. Acht weitere Versuche an Gruppen mit vier, fünf, sieben und acht Neuromasten zeigen ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den erreichten maximalen Frequenzen vor und nach dem Eingriff.

b) Reizung zweier Neuromasten mit zeitlicher Verzögerung

Es wurde gezeigt, daß durch Reizung eines Neuromasten der Gruppe maximale Frequenzen erreicht werden können und daß dies nicht durch Summation der Aktivitäten der einzelnen Äste geschieht. In den folgenden Versuchen soll nun der Frequenzverlauf in der Stammfaser ermittelt werden, der bei Reizung zweier Neuromasten derselben Gruppe mit unterschiedlicher zeitlicher Verzögerung zwischen zwei Reizen entsteht. Der Frequenzverlauf von zwei einzelnen Reizen (Reiz in Neuromast A - Vorschubgeschwindigkeit = 15 mm/sec - in Abb. 19 d; Reiz in Neuromast B - Vorschubgeschwindigkeit = 20 mm/sec - in Abb. 19 a) wird registriert: Es ergibt sich jeweils ein schneller Anstieg zu einem Maximum mit einem Mittelwert von 480 Hz bei Reiz in A und 580 Hz bei Reiz in B. An das jeweilige Maximum schließt sich eine abfallende Phase an.

Als nächstes werden dieselben Neuromasten nacheinander mit einer zeitlichen Verzögerung von 13 bzw. 72 msec - Reiz in A zuerst - (Abb. 19 b, c) und einer zeitlichen Verzögerung von 10 bzw. 64 msec - Reiz in B zuerst - (Abb. 19 e, f) gereizt. Das Ergebnis aus diesen Untersuchungen läßt sich in den folgenden Punkten zusammenfassen: 1. Jeder Reiz bewirkt für sich alleine einen Frequenzverlauf, der charakteristisch ist für den einzelnen Reiz. 2. Wird in die abfallende Phase einer Reizantwort ein zweiter Reiz an einer anderen Stelle der gleichen Neuromastengruppe gesetzt, so wird die abfallende Phase der ersten Reizantwort unterbrochen, die Frequenz steigt wieder an, auf den für den zweiten Reiz charakteristischen maximalen Wert und fällt erneut ab, in einer für den zweiten Reiz charakteristischen Weise. 3. Verringert man nun den zeitlichen Abstand zwischen den Reizen, so rückt das charakteristische Maximum des zweiten Reizes immer dichter an das erste Maximum heran und unterbricht immer früher die abfallende Phase der ersten Reizantwort. Nach dem zweiten Frequenzmaximum fällt die Frequenz erneut ab. Käme es zu einer Summation der Antworten der beiden gereizten Neuromasten, so würde bei verringertem zeitlichen Abstand das Maximum der zweiten Antwort (wesentlich) höher liegen, als das erstens bei der isolierten Reizantwort und zweitens bei dem größeren Abstand zwischen erstem und zweitem Reiz der Fall ist. Ebenfalls müßte die abfallende Phase nach dem zweiten Maximum nach oben verschoben sein. Daß dies zumindest im Bereich des zweiten Maximums und dem ersten Teil der abfallenden Phase nach dem zweiten Reiz nicht der Fall ist, zeigen die gepunkteten Kurven in Abbildung 19 b und e. Um diese Kurven zu erhalten, wird der Wert des Maximums eines zufällig ausgesuchten zweiten isolierten Reizes (Abb. 19 a und d) mit dem Wert eines ebenfalls zufällig ausgesuchten ersten isolierten Reizes addiert, der 35 msec (bei erstem Reiz = Reiz in A), bzw. 30 msec (bei erstem Reiz = Reiz in B) vom Beginn des ersten Reizes entfernt liegt (Abb.

19 a und d). 35 und 30 msec sind die durchschnittlichen zeitlichen Abstände der zweiten Maxima vom Beginn des ersten Reizes in Abbildung 19 b und e. Ebenso wie das Maximum werden die übrigen Mittelwerte der gepunkteten Kurve errechnet. Diese Mittelwerte der gepunkteten Kurve sind in dem mit Pfeilen markierten Bereich signifikant verschieden ($p < 1\%$; t-Test) von den experimentell erhaltenen Kurven.

Zumindest im oberen Frequenzbereich kommt es also nicht zu einer Summation der Antworten beider Neuromasten. Es scheint im Gegenteil so zu sein, daß die niedrige Frequenz des einen Neuromasten durch die höhere des anderen ersetzt wird. Dies zeigt ein Vergleich der Antworten bei Reiz in A in Abbildung 19 d, e, f, sowie der Antworten bei Reiz in B in Abbildung 19 a, b, c. Sowohl zwischen den Antworten bei Reiz in A als auch bei Reiz in B besteht zumindest im Bereich der Maxima und der oberen Frequenzbereiche kein signifikanter Unterschied. Das in Abb. 19 gezeigte Ergebnis konnte in drei weiteren Versuchen mit anderen Neuromastengruppen bestätigt werden.

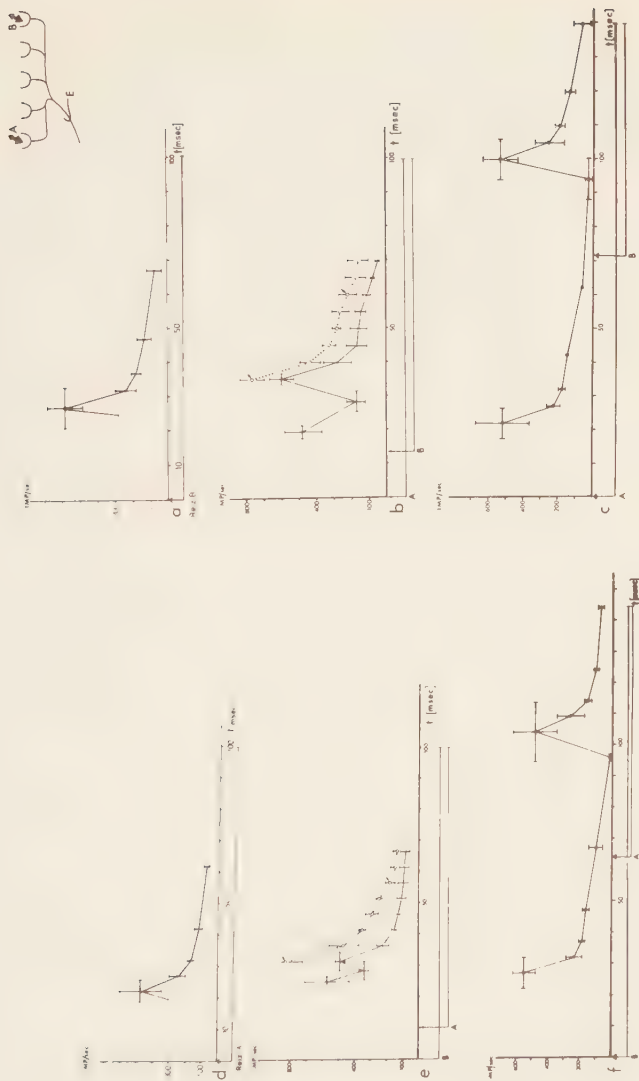


Abbildung 19

Abbildung 19: Frequenzverlauf bei der Reizung zweier Neuromasten mit zeitlicher Verzögerung

a) Frequenzverlauf bei Reiz allein in B.
b) und c) Reiz in A zuerst, sodann Reiz in B (13 bzw. 72 msec Verzögerung). d) Frequenzverlauf bei Reiz allein in A. e) und f) Reiz in B zuerst, sodann Reiz in A (10 bzw. 64 msec Verzögerung). Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen der Maxima und Minima aus acht aufeinanderfolgenden Reizserien, deren zeitliche Entfernung vom zugehörigen Reizbeginn und der weitere Frequenzverlauf. Die gepunkteten Kurven in b) und e) ergeben sich bei Addition der zusammengehörigen Werte aus den einzelnen Kurven bei Reiz in A und B. Die Pfeile geben die Bereiche an, in denen die Mittelwerte der gepunkteten Kurven und die Mittelwerte der experimentell erhaltenen Kurven signifikant verschieden sind ($p < 1\%$; t-Test). A und B = gereizte Neuromasten; E = Ableitelektrode. Weitere Erläuterungen hierzu s. Text.

c) Reizung einer Gruppe von zwei Neuromasten im Winkel von 45 Grad

Bei der zeitlich verzögerten Reizung von zwei Neuromasten einer Gruppe bestimmt der jeweils höherfrequent feuernde Neuromast die Antwort in der Stammfaser. So erhält man (wie in Abbildung 19 b und e dargestellt) nacheinander Maximum, abfallenden Frequenzverlauf, Maximum und erneut abfallende Phase. Dieses Ergebnis stammt von der Reizung zweier getrennt stehender Neuromasten im 90 Grad Winkel. Es ist zu untersuchen, ob diese Reihenfolge der wieder auftretenden Maxima bei Reizung einer gesamten Gruppe überhaupt zu erkennen ist, wenn die Cupulae aller Neuromasten nacheinander z.B. im

45 Grad Winkel abgebogen werden, oder ob es zu einer nahezu gleichbleibenden Frequenz vom ersten bis zum letzten gereizten Neuromasten kommt. Zunächst soll der Frequenzverlauf einer Gruppe von fünf Neuromasten untersucht werden, bei der nur zwei nebeneinanderstehende Neuromasten reizbar sind; drei Neuromasten wurden ausgeschaltet. Mit Hilfe eines Glashakens, der mit einem Mikromanipulator im 45 Grad Winkel zur Längsachse der Gruppe über den beiden Neuromasten bewegt wird, werden die beiden Neuromasten gereizt. Abbildung 20 zeigt das Ergebnis: Man erhält einen zweigipfligen Frequenzverlauf. Die maximalen Frequenzen sind im Mittel 135 msec voneinander entfernt. Das entspricht einer mittleren Vorschubgeschwindigkeit von ca. 1 mm/sec, da der mittlere Abstand zwischen den Neuromasten dieser Gruppe etwa 250 μ m beträgt.

d) Reizung einer Gruppe von sechs Neuromasten mit Reizwinkeln von 45 bis 90 Grad

Mit derselben Reizvorrichtung wie oben beschrieben, wird eine Gruppe mit sechs Neuromasten im 45 bis 90 Grad Winkel gereizt. Abbildung 21 zeigt als Ergebnis zwei charakteristische Beispiele: Während bei 45 Grad noch mehr oder minder deutlich die einzelnen Maxima zu erkennen sind (Abb. 21 a), rücken sie gegen 90 Grad immer mehr zusammen (Abb. 21 b). Bei genau 90 Grad ist nur mehr ein Maximum vorhanden. Wir erhalten also durch den zeitlichen Abstand der auftretenden Frequenzmaxima eine Information über den Reizwinkel bei einer bestimmten Vorschubgeschwindigkeit, bzw. über die Vorschubgeschwindigkeit bei einem bestimmten Reizwinkel.

Die Maximalwerte der Frequenzen bei den unterschiedlichen Reizwinkeln sind hierbei nicht miteinander vergleichbar, da bei Verstellung der Ablenkvorrichtung auch die Höhe der Reizelektrode über der Neuromastenöffnung variiert und somit die Reizintensität nicht immer gleich ist, auch wenn

die Vorschubgeschwindigkeit konstant bleibt.

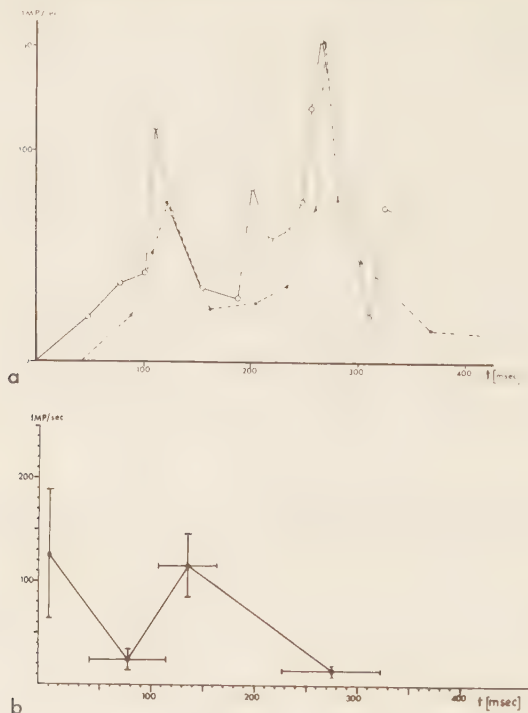


Abbildung 20: Frequenzverlauf bei der Reizung einer Gruppe mit zwei Neuromasten im 45 Grad Winkel zur Gruppenlängsachse

a) zeigt zwei Originalkurven, bei b) sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Maxima und Minima von zehn aufeinander folgenden Reizserien aufgetragen. Die ersten Maxima aller Einzelkurven sind auf einen gemeinsamen Zeitpunkt gelegt. Betrag und Zeitpunkt der Maxima und Minima schwanken durch die manuelle Reizung. Die Mittelwerte der Maxima und Minima sind signifikant verschieden ($p < 1\%$; t-Test).

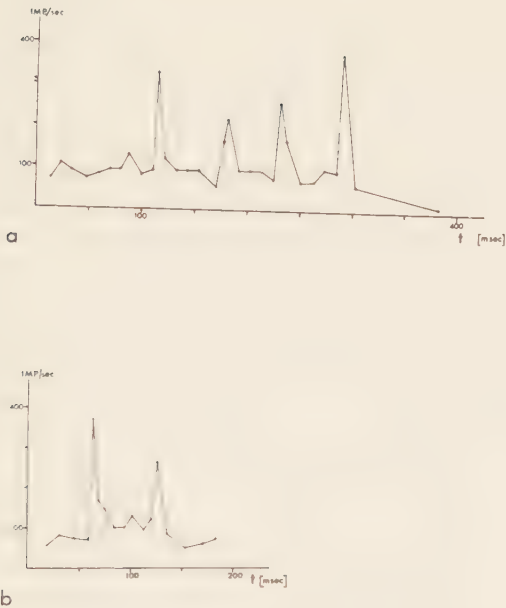


Abbildung 21: Reizung einer Gruppe mit sechs Neuromasten

a) Frequenzverlauf bei Reizung im 45 Grad Winkel und b) im nahezu 90 Grad Winkel zur Gruppenlängsachse. Sowohl bei 45 Grad als auch bei nahezu 90 Grad Reizwinkel sind die Maxima der einzelnen gereizten Neuromasten unterschiedlich stark ausgebildet. Dies geschieht wahrscheinlich dadurch, daß der Abstand der Reiznadel zur einzelnen Neuromastenöffnung aufgrund der Unebenheit der Hautoberfläche schwankt, die Neuromasten also unterschiedlich stark gereizt werden.

2. Erste Versuche zur Impulsinteraktion bei Spontanaktivität

Die unter C III 1 a bereits erwähnten Ausschaltversuche sollten klären, welchen Anteil jeder einzelne Neuromast an der Impulsrate und an der Unregelmäßigkeit der Impulsabstände bei der Spontanaktivität einer Gruppe mit mehreren Neuromasten besitzt. Es sollte untersucht werden, ob eine Beziehung zwischen Zahl der Neuromasten pro Gruppe und Impulsrate existiert, oder ob eventuell nur ein Neuromast der Gruppe Rhythmus und Impulsrate der Spontanaktivität bestimmt. Das Ergebnis zeigt, daß die Impulsrate bei der Spontanaktivität tatsächlich geringer wird nach Ausschaltung eines einzigen Neuromasten. Dies gilt auch bei größeren Gruppen (mehr als vier Neuromasten). Da aber oft schon bei Ausschaltung eines einzigen Neuromasten die gesamte Spontanaktivität ausfällt, die übriggebliebenen Neuromasten allerdings voll reizbar sind, ist nicht zu sagen, ob in diesen Fällen die Spontanaktivität vorher nur von diesem einen Neuromasten bestimmt wurde, oder ob die Ausschaltung allgemein eine so starke Schädigung aller Neuromasten hervorruft, daß die Spontanaktivität aussetzt. In welchem Ausmaß die Spontanaktivität (Impulsrate und Unregelmäßigkeit der Impulsabstände) durch die Anzahl der Neuromasten bestimmt wird, ist wahrscheinlich nur durch ein reversibles Ausschaltverfahren erkennbar, bzw. durch gleichzeitige Messung der Spontanaktivität isolierter Gruppen mit z.B. zwei, vier, sechs, zehn Neuromasten pro Gruppe. Frequenzmessungen der Spontanaktivität mehrerer Gruppen nacheinander lassen nach Untersuchungen von v. Honert und Murray (pers. Mitteilung) keine Abhängigkeit der Impulsrate von der Neuromastenzahl erkennen.

D. Diskussion

I. Zur Lage der Impulsentstehungsorte

Das Ergebnis der morphologischen Untersuchungen zeigt, daß die Ranvierknoten in den afferenten Fasern ausschließlich auf die Aufzweigungen beschränkt sind und die Myelinisierung an der Basalmembran endet. Das bedeutet, daß die beiden endständigen Neuromasten einen gemeinsamen ersten Schnürring besitzen. Gerade diese distal gelegenen Neuromasten jeder Gruppe eignen sich damit zur Festlegung der Impulsentstehungsorte. Das Ergebnis, daß ein Impulsentstehungsort pro Neuromast existiert und die Impulse vor der Myelinisierung entstehen, stammt vor allem von Untersuchungen der endständigen Neuromasten. Es ist aber anzunehmen, daß dies auch für alle anderen Neuromasten der Gruppe gilt, da sich bei meinen Untersuchungen weder morphologische noch physiologische Unterschiede zwischen den Neuromasten einer Gruppe ergaben. Der Befund, daß die Impulse vor der Myelinisierung entstehen, begründet sich allein darauf, daß zwischen Aufzweigung und Basalmembran keine weiteren Ranvierknoten vorhanden sind (Ergebnis von fünf elektronenoptisch untersuchten Gruppen). Dies ist zu beachten, denn das elektrophysiologische Ergebnis sagt nur aus, daß pro Neuromast ein Impulsentstehungsort existiert. Vor allem die elektrophysiologischen Ableitungen, in denen es gelang, an zwei Orten innerhalb der Neuromastengruppe zu reizen und damit zwei verschiedene Ankunftszeitdifferenzen hervorzurufen, beweisen, daß ein Impulsentstehungsort pro Neuromast existiert. Eine Ankunftszeitdifferenz alleine aufgrund eines Reizes könnte ja auch auf einer konstanten Ankunftszeitdifferenz zwischen den Elektroden beruhen, die durch die Elektrodenplatzierung oder das Auswertverfahren entstehen kann. Diese Möglichkeit scheidet aufgrund der beiden Reizorte innerhalb derselben Gruppe aus, da weder die Elektrodenplatzierung noch das Auswertverfahren während der Versuchsserie in irgend einer

Weise verändert wird. Dennoch sind auch die Abbildungen 10 und 14 bereits ein Beweis für mehr als einen Impulsenstehungsort; denn bei Reiz ergibt sich ein Maximum in einer Ankunftszeitdifferenz zwischen den Elektroden E_1 und E_2 , das bei Spontanaktivität alleine nicht vorhanden ist. Bei einem gemeinsamen Impulsenstehungsort müßte aber, gleichgültig ob und an welcher Stelle gereizt wird, immer das gleiche Maximum entstehen.

Wenn angenommen werden kann, daß der erste Impulsenstehungsort vor der Myelinisierung der afferenten Faser, also an der Basalmembran oder innerhalb eines Neuromasten liegt, ergibt sich zwangsweise die Frage, ob ein gemeinsamer Impulsenstehungsort in einem Neuromasten existiert und die Leitung in den unmyelinisierten Terminalen bis zu diesem gemeinsamen Punkt unterschwellig verläuft, oder ob bereits in mehreren unmyelinisierten Ästen Impulse entstehen. Trifft die letzte Vermutung zu, dann bleibt immer noch ungeklärt, ob die Impulse weitergeleitet werden zum ZNS, oder ob es dazu nur durch Summation mehrerer Astspikes kommt. Für alle Versuche gilt jedoch folgende Feststellung: Bei Reizserien und auch bei Spontanaktivität ließen sich nie Impulse ableiten, die nicht auch in einem anderen Neuromasten derselben Gruppe bzw. in der Stammfaser nachweisbar waren. Ebenso war die Größe der abgeleiteten Spikes in einem Neuromasten relativ konstant. Dies spricht gegen abortive Astspikes. Eine sichere Entscheidung, ob multiple Impulsenstehungsorte in den unmyelinisierten Terminalen vorhanden sind, kann aber durch die bisherigen Untersuchungen allein nicht getroffen werden.

Die histologischen Untersuchungen über den Verlauf der afferenten Fasern innerhalb einer Neuromastengruppe zeigen, daß die Fasern sich beim Erreichen einer Gruppe in zwei Kollaterale gabeln, die je einen Teil der Neuromastengruppe durch weitere Aufzweigungen innervieren. Es ergibt sich

daraus eine Zweiteilung jeder Neuromastengruppe. Hierin liegt möglicherweise die Ursache (Murray, pers. Gespräch), daß Murray und Capranica (1973) nur zwei Impulsentstehungs-orte pro Neuromastengruppe annehmen. Dies gilt nach ihren Vermutungen auch für mehr als zwei Neuromasten pro Gruppe. Bei der von Murray und Capranica verwendeten Ableitmethode, die daraus besteht, daß eine Elektrode in einem Neuromasten, die andere an der Stammfaser einer isolierten Gruppe plazi-ert wird, ergeben all jene Neuromasten der Kollateralen, die nicht den von der Ableitelektrode penetrierten Neuromasten innerviert, die gleiche Ankunftszeitdifferenz und erscheinen damit als "1. Impulsentstehungsort" (s. Abb. 22 a). Die Neuromasten, die von der anderen Kollateralen, in der auch die Elektrode lokalisiert ist, versorgt werden, liefern bei dem angeführten Beispiel ebenfalls nur eine Ankunftszeit-differenz. Der von der Elektrode penetrierte Neuromast könnte eine dritte Ankunftszeitdifferenz ergeben. Geht man von der (unbewiesenen) Annahme aus, daß jeder Neuromast der Gruppe einen gleichen Beitrag an Impulsen zur Spontan-aktivität liefert, so wird dieser dritte Δt -Wert bei einer Häufigkeitsverteilung wahrscheinlich von den beiden anderen Δt -Werten überlagert werden. Weitere Ankunfts-zeitdifferenzen müssen sich erst dann ergeben, wenn bei einer Gruppe mit einer großen Neuromastenzahl die Elektrode einen Neuromasten weit distal der ersten Aufgabelung der Stammfaser penetriert (Abb. 22 b). Durch Reizung eines Neu-romasten im Bereich A oder B tritt (bei Murray und Capranica, 1973) die jeweilige Ankunftszeitdifferenz häufiger auf als die andere. (Die eventuell existierenden weiteren Ankunfts-zeitdifferenzen fallen nicht mehr ins Gewicht). Diese Er-gebnisse stehen also keineswegs im Widerspruch zu meinen Ergebnissen, daß ein Impulsentstehungsort pro Neuromast existiert.

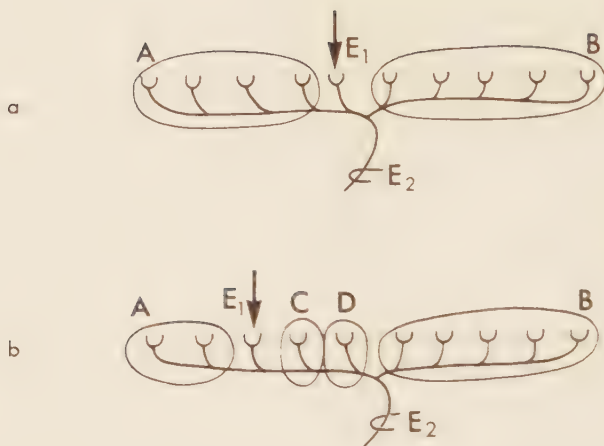


Abbildung 22: Skizze zur Erläuterung der Abhängigkeit der Zahl der feststellbaren Impulsentstehungsorte von der Platzierung der Elektrode innerhalb einer Neuromastengruppe

Bei den skizzierten Elektrodenplatzierungen (E_1 , E_2) ergeben alle von demselben Kreis (A, B, C oder D) umgebenen Neuromasten die gleiche Ankunftszeitdifferenz. Weitere Erläuterungen s. Text.

Einen ersten Hinweis auf multiple Impulsentstehungsorte in den afferenten Fasern lieferte vermutlich Görner, 1963. Er fand bei einigen Gruppen drei Impulstypen, wenn er nahe an der Neuromastengruppe ableitete, eine Tatsache, die auf drei afferente Fasern in diesem Bereich hinweist (s. auch Abb. 7). Da bei größeren Entfernungen proximal der Gruppe noch von

keinem Autor bisher drei Impulstypen oder drei afferente Fasern gefunden wurden und auch nicht bekannt ist, daß eine Faser von der Neuromastengruppe kommend nicht zum Nervus lateralis führt, sondern zu einem anderen Ort, z.B. zu einer anderen Neuromastengruppe oder zu einem anderen Receptor, kann man annehmen, daß sich zwei dieser Fasern in ihrem Verlauf Richtung ZNS (proximal der Ableitstelle, zu einer Faser vereinigen. Diese beiden Kollaterale innervieren je einen anderen Teil der Neuromastengruppe (s. Abb. 7). Sowohl bei Spontanaktivität als auch bei Reizung erhält Görner (1963) Antworten in beiden Ästen, also müssen mindestens zwei Impulsentstehungsorte in der Neuromastengruppe vorhanden sein, nämlich einer pro Kollaterale.

II. Zur Impulsinteraktion bei Reizung

Die Untersuchungen über die Impulsentstehungsorte zeigen, daß ein Impulsentstehungsort pro Neuromast besteht und die an einem Neuromasten generierten Impulse sich sowohl in Richtung ZNS als auch in alle Äste ausbreiten. Daraus schließt sich die Frage an, wie die in den Terminalen entstehenden Impulse in der Stammfaser integriert werden. In Kapitel C III 1 b sah man, daß bei der Reizung zweier Neuromasten derselben Gruppe mit einer zeitlichen Verzögerung immer der jeweils höherfrequent feuernde Neuromast und nicht die Summe aus hoher und niedriger Frequenz die Entladungsrate in der Stammfaser bestimmt. Die Ursache hierfür soll erläutert werden, indem die Ergebnisse einer theoretischen Analyse der Informationscodierung der efferenten Fasern mit multiplen Generatoren von Eagles und Purple (1974) auf die Verknüpfung an der Neuromastengruppe übertragen werden. In einer Neuromastengruppe existieren mehrere separate Orte, wo die Kodierung der Generatorpotentiale in eine Folge von Alles-oder-Nichts-Impulsen stattfindet, oder kann ("Encoder"). Entsteht ein Impuls an einem Neuromasten, so breitet er sich in Richtung ZNS aus, bringt aber ebenfalls

antidrom in die anderen Äste ein und "löscht" ("reset") alle Encoder. Bei der gemessenen Leitungsgeschwindigkeit $\bar{v} = 6,2 \text{ m/sec}$ sind die Impulse selbst bei sehr großen Gruppen nur wenige 100 μsec später in allen Impulsenstehungsorten angelangt. Alle Encoder der Gruppe werden also nahezu gleichzeitig "gelöscht" und beginnen auch etwa gleichzeitig erneut die EPSP's zu integrieren. Reizt man gleichzeitig zwei Neuromasten, die bei getrennter Reizung mit verschieden hoher Impulsrate feuern, so wird der Neuromast mit der niedrigeren Feuerungsrate nie die Schwelle für einen orthodromen Impuls erreichen, da der Encoder immer vorher durch den antidrom eindringenden Impuls des höherfrequent feuernden Neuromasten "gelöscht" wird. Von der Stammfaser leitet man also nur die Antwort des höherfrequent feuernden Neuromasten ab. Wenn mehrere Impulse zufällig gleichzeitig entstehen, so kollidieren sie und nur einer der Impulse wird weitergeleitet (s. auch Lindblom; Tapper, 1966).

Von Görner wurde 1963 beschrieben, daß Auslenkung der Sinneshaare eines Neuromasten in einer Richtung und Auslenkung der Sinneshaare eines zweiten Neuromasten in entgegengesetzter Richtung in beiden afferenten Fasern Erregung hervorruft, während bei Reizung aller Neuromasten in einer Richtung die Aktivität der einen Faser erhöht und die der anderen Faser gehemmt wird. Dieser Befund wird ebenfalls durch das Ergebnis, daß der höherfrequente Neuromast die Entladungsrate in der Stammfaser bestimmt erklärt, denn die Verringerung der Aktivität in der Stammfaser geschieht nur dadurch, daß die Entladungsrate aller Neuromasten heruntergedrückt wird. Reizt man nur einen einzigen Neuromasten, so bestimmt er mit seiner Entladungsrate die Aktivität in der Stammfaser.

Bei der beschriebenen Reizung einer Gruppe in Winkeln kleiner als 90 Grad beschreibt der Frequenzverlauf eine

mehrgipflige Kurve und zwar entspricht die Zahl der Gipfel der Zahl der gereizten Neuromasten. Der zeitliche Abstand zwischen den wieder auftretenden Frequenzmaxima, bei dem relativ konstant bleibenden Abstand zwischen den in einer Reihe stehenden Neuromasten einer Gruppe, ist abhängig von der Stärke des Reizes (im natürlichen Fall der Anströmgeschwindigkeit) und dem Anströmwinkel (s. Abb. 23 b). Ein bestimmter zeitlicher Abstand zwischen den Maxima wird von allen Strömungsgeschwindigkeiten innerhalb eines bestimmten Reizstärkebereichs erreicht, wenn der Anströmwinkel geändert wird. Beide Parameter, Reizstärke und Reizrichtung, sind aber auch maßgebende Faktoren für die Höhe der Spitzenfrequenz. Wie Abbildung 23 a zeigt (nach Görner, 1963), wird auch eine bestimmte Spitzenfrequenz (wie vorher der zeitliche Abstand zwischen den Maxima) von allen Strömungsgeschwindigkeiten innerhalb eines begrenzten Reizstärkebereichs erreicht, wenn sich dabei die Anströmwinkel ändern.

Trägt man die Spitzenfrequenz und den zeitlichen Abstand zwischen den Maxima in Abhängigkeit von Strömungsgeschwindigkeit und Anströmwinkel gemeinsam auf (Abb. 23 c), so stellt man fest, daß sich die Kurven einer bestimmten Spitzenfrequenz und eines bestimmten zeitlichen Abstandes zwischen den Maxima in zwei Punkten schneiden. Es existieren also maximal zwei Strömungsgeschwindigkeiten mit ihren dazugehörigen Anströmwinkeln pro Spitzenfrequenz plus zeitlichem Abstand zwischen den Maxima. Bei einem dargestellten Beispiel in Abbildung 23 c mit einer Spitzenfrequenz von 300 Hz und einem zeitlichen Abstand zwischen den Maxima von 40 msec sind es die beiden Wertepaare: $v = 5,6$ mm/sec bei $\alpha = 25$ Grad und $v = 2,1$ mm/sec bei $\alpha = 71$ Grad. Eindeutig kodiert sind allein die maximal möglichen zeitlichen Abstände für jede Spitzenfrequenz, z.B. bei der Spitzenfrequenz 300 Hz ist es der zeitliche Abstand zwischen den Maxima von ca. 80 msec. Hier gibt es nur eine Strömungsgeschwindigkeit mit einem Anströmwinkel.

Dargestellt werden in Abbildung 23 nur Spitzenfrequenzen und zeitliche Abstände bei Reizwinkeln von 0 - 90 Grad. Das gleiche gilt auch für die Reizwinkel von 90 - 180 Grad, da eine Neuromastengruppe allein offensichtlich nicht unterscheiden kann, welcher Neuromast der Gruppe zuerst gereizt wird. Das heißt, es existieren nicht zwei bzw. eine, bei dem größtmöglichen zeitlichen Abstand zwischen den Maxima, sondern vier bzw. zwei verschiedene Reizstärken mit den dazugehörigen Reizwinkeln für eine Spitzenfrequenz plus einen zeitlichen Abstand. Eindeutig kodiert sind dann nur die Spitzenfrequenzen, die mit einem zeitlichen Abstand zwischen den Maxima von 0 msec auftreten, also einem Anströmwinkel von 90 Grad zur Längsachse. Für alle anderen Fälle müssen noch weitere Informationsträger vorhanden sein, wenn eine Gruppe eindeutig Reizrichtung und Reizstärke kodieren soll. Denkbar wäre z.B., daß der Frequenzanstieg im vorher erwähnten Beispiel 300 Hz/ 40 msec bei $v = 5,6$ mm/sec mit $\alpha = 25$ Grad anders verläuft, als bei $v = 2,1$ mm/sec mit $\alpha = 71$ Grad, obwohl dieselbe Spitzenfrequenz erfolgt. Ebenso sind ein unterschiedlicher Adaptationsverlauf oder verschieden hohe Plateaufrequenzwerte bei gleicher Spitzenfrequenz plus gleichem zeitlichen Abstand zwischen den Maxima denkbar. Diese angeführten Überlegungen sollen zeigen, welche Information über Reizstärke und Reizrichtung eine Neuromastengruppe theoretisch kodieren kann. Ob diese Informationen nun tatsächlich ausgewertet werden, läßt sich nur im Verhaltensversuch exakt entscheiden.

Neben der diskutierten Fragestellung, in welchem Maße Reizrichtung und Reizstärke kodiert werden können, ermöglichen die multiplen Impulsentstehungsorte (im Gegensatz zur passiven Ausbreitung) eine große Anzahl von Neuromasten pro Gruppe, also große rezeptive Felder. Bei Verletzung oder Neuanleitung einzelner Neuromasten wird die Informationsübertragung der unversehrten Neuromasten nicht beeinträchtigt.

Abbildung 23: Spitzenfrequenzen und zeitliche Abstände zwischen den wiederkehrenden Maxima bei Reizung einer Organgruppe unter verschiedenen Reizwinkeln und Reizstärken

a) zeigt die Abhängigkeit der Spitzenfrequenzen (SF) und b) die Abhängigkeit der zeitlichen Abstände zwischen den wiederkehrenden Maxima (AM) von den Reizwinkeln (α) und der Reizstärke (v). c) zeigt die Beziehung zwischen Reizstärke und Reizwinkel für bestimmte Spitzenfrequenzen und bestimmte zeitliche Abstände zwischen den wiederkehrenden Frequenzmaxima. Als räumlicher Abstand zwischen den Neuronen einer Gruppe wird 250 μm angenommen.

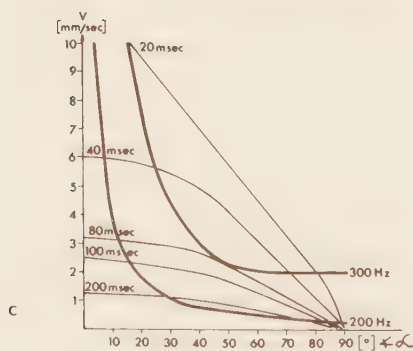
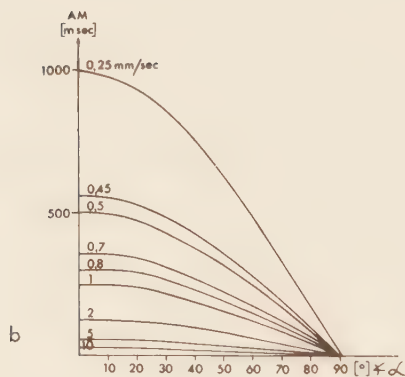
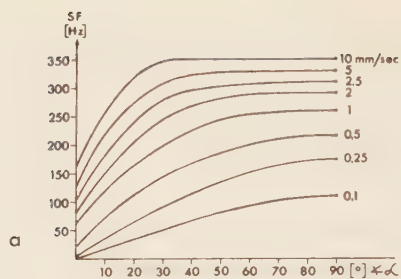


Abbildung 23

III. Zur Interaktion bei Spontanaktivität

Es ist nach den Untersuchungen von Murray und Caprinica (1973) und eigenen Experimenten zu erwarten, daß nicht alleine ein Neuromast einer Gruppe bei der Spontanaktivität die Entladungsrate in der Stammfaser bestimmt. Wäre dies der Fall, so dürfte man bei Spontanaktivität nur eine Ankunftszeitdifferenz feststellen. Daraus folgt also, daß die abgeleitete Spontanaktivität einer Neuromastengruppe bereits das Ergebnis der Interaktion der Aktivität wahrscheinlich mehrerer, wenn nicht aller Neuromasten der Gruppe sein muß. Damit müßte sich aber eine Abhängigkeit der Entladungsrate in der Stammfaser in Bezug auf Impulsfrequenz und Verteilung der Impulsintervalle von der Anzahl der Neuromasten pro Gruppe erkennen lassen. Das ist aber nach Untersuchungen von v. Honert und Murray (pers. Mitteilung) nicht der Fall. Auch die Methode, nach der Ableitung der Spontanaktivität kleiner Gruppen (drei Neuromasten pro Gruppe) durch Ausschaltung von zwei Neuromasten nacheinander die Anteile der einzelnen Neuromasten festzulegen, scheiterte bisher. Wahrscheinlich werden die übriggebliebenen Neuromasten ebenfalls geschädigt. Somit ist über die Interaktion der Impulse bei Spontanaktivität bisher wenig auszusagen. Aufgrund der Ergebnisse von v. Honert und Murray ist eher anzunehmen, daß die Spontanaktivität weniger durch die Anzahl der Neuromasten pro Gruppe, als durch andere Faktoren z.B. die Sauerstoffversorgung, beeinflußt wird.

E. Zusammenfassung

1. Jede afferente Faser zweigt sich beim Erreichen der Neuromastengruppe in zwei Kollaterale auf. Die Kollateralen innervieren je einen Teil der Neuromastengruppe, indem von den Kollateralen nacheinander Äste zu den einzelnen Neuro-

masten abzweigen.

2. Ranvierknoten werden in den afferenten Fasern im Bereich einer Neuromastengruppe ausschließlich an den Aufzweigungen gefunden. Die Myelinisierung endet bei den afferenten und efferenten Fasern an der Basalmembran der Neuromasten.

3. Elektrophysiologische Zwei-Punkt-Ableitungen innerhalb einer Neuromastengruppe zeigen, daß in den afferenten Fasern ein Impulsentstehungsort pro Neuromast existiert und zwar mit großer Wahrscheinlichkeit vor der Myelinisierung der Faser.

4. Die Impulse breiten sich orthodrom und antidrom innerhalb der Kollateralen und Äste einer Faser aus.

5. Impulsinteraktionsversuche zeigen, daß es bei Reizung von zwei Neuromasten einer Gruppe nicht zu einer Summation der Antworten beider Neuromasten kommt, sondern der jeweils am stärksten erregte Neuromast die Aktivität in der afferenten Faser bestimmt.

6. Es wird diskutiert, welche Bedeutung das Ersetzen der niedrigeren durch die höhere Frequenz und das Vorhandensein einer in der Literatur beschriebenen Richtcharakteristik für die Kodierung von Reizstärke und Reizrichtung in einer Neuromastengruppe haben kann.

F. Literaturverzeichnis

- Adrian, E.D., Zotterman, Y.: The impulses produced by sensory-nerve-endings. Part 2. The response of a single end-organ. J.Physiol., London 61, 151-171 (1926).
- Albuquerque, E., Chung, S.H., Ottoson, D.: Impulse generation in the isolated muscle spindle under the action of tetrodotoxin. Acta physiol. Scand. 75, 301-312 (1969).
- Dijkgraaf, S.: The functioning and significance of the lateral-line organs. Biol. Rev. 38, 51-105 (1963).
- Eagles, J.P., Purple, R.L.: Afferent fibers with multiple encoding sites. Brain Research 77, 187-193 (1974).
- Edwards, C., Ottoson, D.: The site of impulse initiation in a nerve cell of a crustacean stretch receptor. J. Physiol. (Lond) 143, 138-148 (1958).
- Eyzaguirre, C., Kuffler, S.W.: Processes of excitation in the dendrites and in the soma of single isolated sensory nerve cells of the lobster and crayfish. J. gen. Physiol. 39, 87-119 (1955).
- Flock, A. : Ultrastructure and function in the lateral line organs. In: Lateral Line Detectors. Ed. by P.Cahn. Bloomington: Indiana Univ. Press 1967.
- Flock, A.: Sensory transduction in hair cells. In: Handbook of sensory physiology, Vol. 1: Principles of receptor physiology. Ed. by W.R. Loewenstein. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971.
- Flock, A., Jørgensen, J., Russell, I.: The physiology of individual hair cells and their synapses. In: Basic Mechanisms in Hearing. Ed. by A. Möller. New York: Academic Press 1973.
- Flock, A., Jørgensen, J.M.: The ultrastructure of lateral line sense organs in the juvenile salamander Ambystoma mexicanum. Cell Tiss. Res. 152, 283-292 (1974).

- Flock, A., Lam, D.: Neurotransmitter synthesis in inner ear and lateral line sense organs. *Nature*, 249, 142-144 (1974).
- Flock, A., Russell, I.: Efferent nerve fibres: Postsynaptic action on hair cells. *Nature New Biol.* 243, 89-91 (1973).
- Florey, E., Florey, E.: Microanatomy of the abdominal stretch receptors of the crayfish (*Astacus fluviatilis* L.) *J. gen. Physiol.* 39, 69-85 (1955).
- Floyd, K., Morrison, J.F.B.: Interactions between afferent impulses within a peripheral receptive field. *J. Physiol.* 238, 62 P (1974).
- Gesteland, R.C., Howland, B., Lettvin, I.Y., Pitts, W.H.: Comments on microelektrodes. *Proc. IRE.* 47, 1856-1862 (1959).
- Görner, P.: Beitrag zum Bau und zur Arbeitsweise des Seitenlinienorgans von *Xenopus laevis*. *Verh. dtsch. zool. Ges. Saarbrücken*, 193-198 (1961).
- Görner, P.: Untersuchungen zur Morphologie und Elektrophysiologie des Seitenlinienorgans vom Krallenfrosch (*Xenopus laevis* Daudin). *Z. verg. Physiol.* 47, 316-338 (1963).
- Harris, G., Flock, A.: Spontaneous and evoked activity from the *Xenopus laevis* lateral line. In: *Lateral line detectors*. Bloomington: Indiana Univ. Press. 1967.
- Harris, G., Frishkopf, L., Flock, A.: Receptor potentials from hair cells of the lateral line. *Science* 167, 76-79 (1970).
- Harris, G., Milne, D.C.: Input-output characteristics of the lateral-line sense organ. *J. Acoust. Soc. Amer.* 40, 32-42 (1966).
- Horch, K.W., Whitehorn, D., Burgess, P.R.: Impulse generation in type I cutaneous mechanoreceptors. *J. Neurophysiol.* 37, 267-281 (1974).
- Jörgensen, J., Flock, A.: The ultrastructure of lateral line sense organs in the adult salamander *Ambystoma mexicanum*. *J. Neurocyt.* 2, 133-142 (1973).

- Katz, B.: Action potentials from a sensory ending.
J. Physiol. (Lond) 111, 248-260 (1950).
- Kennedy, D.: Input and output connections of single arthropod neurons. In: Physiological and biochemical aspects of nervous integration, F.D. Carlson, Ed., p. 285-306. Englewood Cliffs: Prentice Hall 1968.
- Lindblom, U.: Excitability and functional organization within a peripheral tactile unit. Acta Physiol. Scand. Suppl. 153. 44, 1-84 (1958).
- Lindblom, U., Tapper, D.N.: Integration of impulse activity in a peripheral sensory unit. Exp. Neurol. 15, 63-69 (1966).
- Macdonald, J.A.: Inhibition in branched afferent neurons of the bullfrog tongue. J. comp. Physiol. 87, 293-316 (1973).
- Murray, M.J., Capranica, R.R.: Spike generation in the lateral-line afferents of Xenopus laevis: Evidence favoring multiple sites of initiation. J. comp. Physiol. 87, 1-20 (1973).
- Murray, M.J.: Conductile trees: Obtaining structural and functional information from endpoint measurements. J. Theor. Biol. 43, 113-132 (1974).
- Murray, R.W.: The lateral-line organs and their innervation in Xenopus laevis. Quart. J. micr. Sc. 96, 351-361 (1955).
- Murray, R.W.: The thermal sensitivity of the lateralis organs of Xenopus. J. Exp. Biol. 33, 798-805 (1956).
- Ottoson, D., Shepard, G.M.: Synchronization of activity in afferent nerve branches within the frog muscle spindle. Acta Physiol. Scand. 80, 492-501 (1970).
- Pabst, A.: In-Situ-Ableitung der Afferenzen einer Nodulomasten-gruppe des Seitenlinienorgans vom Krallenfrosch Xenopus laevis. Diplomarbeit, vorgelegt an der Freien Universität Berlin (Fachbereich Biologie) Berlin 1973 a.
- Pabst, A.: A simple method for use with tungsten micro-electrodes for the localization of recording sites. Pflügers Arch. 339, 355-358 (1973 b).

- Pabst, H., Kennedy, D.: Cutaneous mechanoreceptors influencing motor output in the crayfish abdomen.
Z. verg. Physiol. 57, 190-208 (1967).
- Palade, G.: A study of fixation for electron microscopy.
J. exp. Med. 95, 285-298 (1952).
- Romeis, B.: Mikroskopische Technik. 16. Aufl. München-Wien:
R. Oldenbourg 1968.
- Russell, I.: The role of the lateral-line efferent system in Xenopus laevis. J. exp. Biol. 54, 621-641 (1971 a).
- Russell, I.: The pharmacology of efferent synapses in the lateral-line system of Xenopus laevis. J. exp. Biol. 54, 643-658 (1971 b).
- Schmidt, R.: Amphibian acoustico-lateralis efferents.
J. cell and Comp. Physiol. 65, 155-162 (1965).

G. Anhang

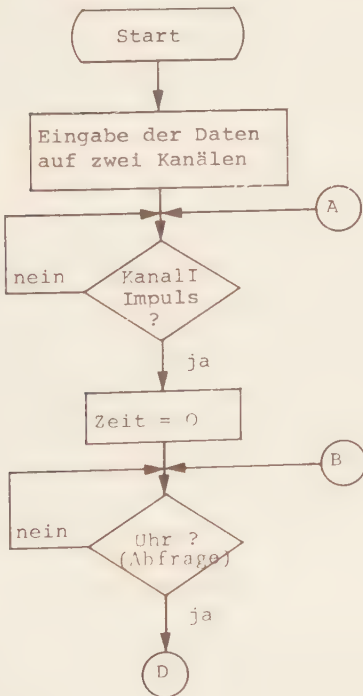
Beschreibung des verwendeten Computerprogramms

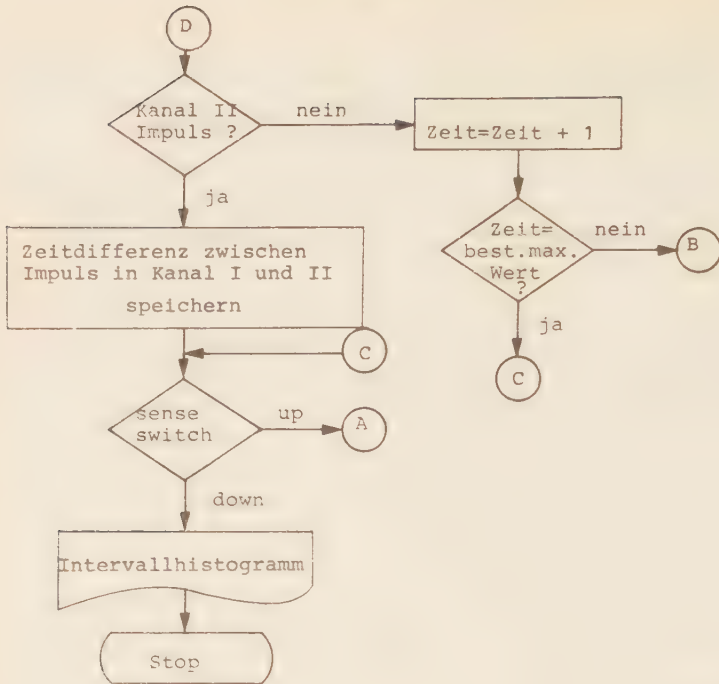
Mit dem Programm werden die zeitlichen Abstände (Δt) der Impulse in Kanal I zu den entsprechenden Impulsen in Kanal II berechnet und in einem Intervallhistogramm aufgetragen.

Kanal I

Kanal II

Flußdiagramm





Man erhält hierbei die zeitlichen Verzögerungen der Impulse in Kanal I zu den Impulsen in Kanal II. Um die negativen Δt -Werte zu erhalten, werden Kanal I und II vertauscht.

Der von mir verwendete Computer (Linc und PDP 8) ist eine Leihgabe der Deutschen Forschungsgemeinschaft Nr. 321-555-66 an Prof.Dr.O.J. Grüsser, Physiologisches Institut der Freien Universität Berlin, Fachbereich 1.

H. Lebenslauf

Am 29. Juli 1947 wurde ich in Herrsching am Ammersee geboren, als Sohn des Diplom Landwirts Dr. Heinrich Pabst und seiner Ehefrau Elisabeth, geborene Grüneisen. Im Herbst 1953 begann meine Schulzeit auf der Volksschule in Schöna, Kreis Eggenfelden (Bayern). Ab Herbst 1958 folgte der Besuch des Gymnasiums in Pfarrkirchen (Bayern). Infolge der Wohnsitzverlegung meiner Eltern von Schöna nach Engelskirchen, Rheinisch-Bergischer Kreis, wechselte ich auf die Realschule in Runderoth, Kreis Gummersbach, Über. Ab Ostern 1962 besuchte ich das Aufbaugymnasium Bergneustadt, wo ich im November 1966 Abitur machte. Von Januar 1967 bis Dezember 1968 absolvierte ich meinen Bundeswehrdienst.

Im April 1969 begann mein Biologiestudium an der Freien Universität Berlin. Am 8.5.1973 legte ich die Diplomprüfung in Biologie an der FU-Berlin ab und begann anschließend mit der Anfertigung der Promotionsarbeit. Von Mai 1972 bis September 1973 war ich als studentische Hilfskraft in der Abteilung Sinnes- und Neurophysiologie tätig. Von Oktober 1973 bis September 1974 erhielt ich ein Stipendium nach dem Graduiertenförderungsgesetz. Seit September 1974 bin ich wissenschaftlicher Assistent im Institut für Tierphysiologie und Angewandte Zoologie der Freien Universität Berlin, Fachbereich Biologie.



I. Danksagung

Herrn Prof. Dr. P. Görner verdanke ich die Überlassung des Themas. Ihm, Herrn Dr. M. Licker und Herrn Prof. Dr. G. Kümmel möchte ich für die Betreuung bei der Durchführung der Arbeit herzlich danken.

Danken möchte ich ebenso Frau C. St. Friedemann und Fräulein A. Middelman für ihre Hilfe bei der Anfertigung der Zeichnungen, wie auch Herrn K. Kunze und Herrn B. Lange für ihre Hilfe bei der Bewältigung technischer Probleme.



